ISSN 1347-4804

和光純薬時報

October 2006
Vol.74 No.4

HeLa 細胞内在性 hAgo2 の抗 hAgo2 モノクローナル抗体による染色パターン

〔総　説〕

〈生 薬 の は な し〉

〈テクニカルレポート〉

〔化学大家〕

〔製品紹介〕

有機合成

環境・分析

生 化 学

遺 伝 子

機　器

〔お知らせ〕

ヒトArgonaute2（hAgo2）に対するモノクローナル抗体の作製

徳島大学　ゲノム機能研究センター　塩見　美喜子

はじめに

RNAiは、1998年にFireらによって線虫を用いた研究より発見された[1]、２本鎖RNAの細胞への導入によって特定遺伝子の発現を配列特異的に抑制出来る事を特徴とする現象である。その後の研究により、RNAiは線虫に限らず、植物やショウジョウバエ、そして酵母といった多くの生物種で起こる事が示された。しかし、しばらくの間、哺乳動物細胞ではRNAiを起こす事は不可能であると考えられていた。哺乳動物細胞では、２本鎖RNAの細胞内導入によってインターフェロン応答、そして細胞死を導くからである[2]。その間、RNAiメカニズムの基礎研究は、主に線虫とショウジョウバエを用いて着実に進んだ。その結果、細胞内に導入された２本鎖RNAは、RNAi反応過程において21塩基対ほどの小さいRNA（short-interfering RNA：siRNA）にプロセスされる事、siRNAを直接細胞内に導入する事によっても効果的にRNAiを起こせる事、そして、siRNAを引き金分子として用いれば、哺乳動物細胞においても細胞死を伴う事なくRNAiを行う事が出来ることが示された[3]。これはまさに画期的な報告であった。哺乳動物細胞では、従来、ある特定の遺伝子の機能を知るためには、それを欠損させるノックアウト法が用いられてきている。遺伝子自身を欠失させるこの方法では、目的の遺伝子発現を完全に抑制出来るが、行程が煩雑であり、高価、時間を有する等の欠点を持ち合わせている。ノックアウト法の代わりになる、簡便な、しかも効果的な手法が多くの研究室で待ち望まれていた。そこで登場したのがRNAiである。RNAiを用いれば、標的遺伝子の発現を完全に抑制する事は出来ないものの、効率よく、しかも高い特異性を伴って遺伝子発現を抑える事ができるため、その応用利用は急速に広がった。特に医療産業界においてはRNAiを遺伝子治療法や薬そのものとして用いる試みが盛んに行われる様になり、臨床試験もすでに始まっている[4]。

RNAi分子経路

哺乳動物細胞内に導入された、あるいは細胞内で発現された２本鎖RNAは、まず２本鎖siRNA（siRNA duplex）となる[3]。この生成反応を担う酵素はRNaseIIIドメインタンパク質Dicerである。細胞内でDicerは２本鎖RNA結合タンパク質TRBPと複合体を形成する[5]。Dicer/TRBP複合体は、siRNA duplex生成後、これに結合してRNP複合体（RISC-loading complex：RLC）となる。RLCにはArgonaute 2（ヒトAgo 2：hAgo 2）も含まれ、hAgo 2によってRLC中のsiRNA duplexは１本鎖となる[6]。この１本鎖化反応は、まず、siRNA duplexの両末端の対合性の強弱の違いを認識する[7]。１本鎖化反応後、対合性の弱い方に5'末端が位置していたsiRNAがhAgo 2（ひいてはRISC）に取り込まれ、RNAi過程下流において機能する。もう一方のsiRNAは、細胞質中で分解されてしまう。siRNAを取り込んだhAgo 2は、そのsiRNAを“ガイド分子”として標的mRNAを探し、それに結合して切断する。切断されたmRNAは、細胞内ではRNaseの餌食となり、さらに分解されてしまうために、それを鋳型とした翻訳は起こらず、よってRNAiを遺伝子発現抑制経路の一つとする。RNAiの様に小さいRNA分子が“トリガー”となって起こる遺伝子発現抑制機構を総称してRNA silencingと呼ぶ[8]。RNAi以外ではmicroRNA（miRNA）による翻訳抑制機構がよく知られている[9]。ヒトでは約500種のmiRNAがこれまでにデータベース上に登録されている。一つのmiRNAが複数の遺伝子を標的とする事を考えると、総合的には相当数の遺伝子がmiRNAによって制御されていると予測される。その他、siRNAが転写レベルでRNA silencingを行うという報告もあるが、詳細なメカニズムは不明である。最近、HeLa細胞を用いた研究により、hAgo 2はP-body（processing body）と呼ばれる局所に集積する事が示された[10]。P-bodyにはmRNA分解因子が凝集しており、そこでmRNA分解が行われる。hAgo 2だけでなく、siRNAやその標的mRNAもP-bodyに局在する事が示された。hAgo 2に結合するタンパク質GW182もP-bodyに局在するタンパク質であり、GW182の発現を抑制するとhAgo 2のP-bodyへの集積が起こらなくなり、RNAiも効かなくなる。RNAi自身はP-bodyで起こるという考え方が強く示唆される様になった。

hAgo2抗体

我々の研究室では最近hAgo 2モノクローナル抗体を作成した。これまでのhAgo 2に関する知見は、殆どの場合細胞内で強制発現したhAgo 2を基として得られている。例えば、哺乳動物細胞で発現するArgonauteタンパク質のうち、標的mRNA切断活性を有するのはhAgo 2のみであると報告されているが[11]、これも強制的に発現させたhAgo 2を用いた結果であり、内在性hAgo 2に実際に標的mRNA切断活性があるかどうかは、これまで示されていない。hAgo 2の生化学的解析を今後さらに進めるためにも、特異抗体が必要である、と我々は考えた。Argonauteタンパク質はPAZドメインとPIWIドメインを有する事を特徴とする[12]。PAZはタンパク質の中ほどに、PIWIはC末端に位置する。これまでのArgonaute構造解析からsiRNAを最初に受け取るドメインはPAZであるが、RNAiが進むにつれてそれはPIWIドメインに移行するとされている。PIWIドメインの立体構造はRNaseHのそれと酷似しており、

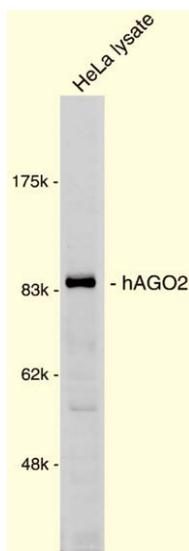



図１．hAgo２抗体を用いたWestern解析結果

HeLa細胞抽出液を作成し、hAgo２抗体でWesternを行った。期待される分子量のところにバンドが検出された。hAgo２組換えタンパク質に反応し、hAgo１組換えタンパク質には、反応しない事は確認済みである。

図２．hAgo２抗体によるHeLa細胞の免疫染色

HeLa細胞をhAgo2抗体で免疫染色した。hAgo2は強制発現していない。内在性hAgo2タンパク質のP-bodyへの局在が、観察される。細胞質も弱いながら均一に染色されている。P-bodyは黄色矢頭で示されている。

RNaseH活性中心に位置する必須アミノ酸も、Argonaute-PIWIドメインにおいて高く保存されている[14]。実際、標的mRNAを切断するのもPIWIドメインの役目である事が明らかとなっている[13]。一方、ArgonauteのN末端領域にはこういった機能性保存領域が無い。そこで我々は、hAgo２のN末端、約150アミノ酸に相当するペプチド部分をGSTに連結した組換えタンパク質を作成し、抗原として用いる事にした。数回のマウス投与後、良好な免疫反応が得られた。マウスのリンパ細胞を回収し、それをミエローマ細胞と融合させる事によってハイブリドーマを得た。数日後、ELISA及びWestern法によってhAgo２抗体産生細胞を選択し、その後、細胞のクローン化を行った。この様にしてhAgo２モノクローナル抗体（産生細胞）は誕生を迎えた（図１）。

hAgo2 抗体の性状

hAgo２抗体がWesternのみならず、細胞免疫染色に使用出来るかどうかを検討した（図２）。HeLa細胞で強制発現したhAgo２はP-bodyに局在する事が報告されているが（前述）、HeLa細胞内在性hAgo２もP-bodyに局在する事が判った。細胞質全体に渡った染色パターンも弱いながら確認できた。hAgo２は普段は細胞質中に局在するが、siRNAを介して標的mRNAと結合した後はP-bodyへ移動するという説と一致する。続いて、HeLa細胞抽出液からの免疫沈降を試みたところ、期待通りにhAgo２が得られる事が明らかになった。hAgo２にはmiRNAが結合する事は、強制発現したhAgo２を用いたこれまでの解析から判っていたが、我々の実験で免疫沈降された内在性hAgo２にもmiRNA（miR-21）が結合している事がNorthern法によって確認出来た。今後、内在性hAgo２に結合するmiRNAの網羅的解析を進める予定である。次に、マウスArgonaute２（mAgo２）への反応性を検討した。マウス3T3細胞の細胞抽出液を作成し、Western解析を行ったところ、mAgo2には反応しない事が明らかになった。hAgo2とmAgo２のアミノ酸配列相同性を確認してみたところ、抗原として用いた150アミノ酸中、8アミノ酸だけが進化の過程で置換していた。ちょうどそれらアミノ酸が集中する領域がhAgo２抗体エピトープであると予想される。

おわりに

我々は、これまで、種々のショウジョウバエRNAi因子に対するモノクローナル抗体を作成し、それらを用いて研究を進め、成果を発表してきた。例えば2005年には、S２細胞より免疫沈降した内在性dAGO２に標的mRNAを切断する活性（Slicer活性）がある事を示した[15]。ごく最近では、ショウジョウバエ卵巣から免疫沈降したPiwiタンパク質（ArgonauteファミリーのサブグループPIWI群に属するメンバーの一つ）には、siRNAともmiRNAとも質を異にする小分子RNA「repeat-associated siRNA (rasiRNA)」が特異的に結合している事を明らかにした[16]。Piwiは、これまでの遺伝学的解析から、生殖細胞の新生、維持に関与している事が示されていたが、その分子経路は未知であった。我々の研究から、Piwiは、rasiRNAを介して、おそらくrasiRNAの前駆体に相当するtransposon遺伝子や染色体上のその他の反復配列領域からの転写産物、もしくは遺伝子そのものに作用する事によって、遺伝子発現制御を行っているのではないか、と示唆された。さらには、その制御が生殖細胞の新生、維持に重要なのではないか、と推測された。今後も生物種を問わずRNA silencing諸因子に対する抗体を作成し、それを有効に活用してRNA silencingの分子経路メカニズムを解明していきたいと考える。

〔参考文献〕
1) Fire, A. *et al.* : *Nature*, **391**, 806-811(1998).
2) Gil, J. and Esteban, M. : *Apoptosis*, **5**, 107-114(2000).
3) Elbashir, S. M. *et al.* : *Nature*, **411**, 494-498 (2001).
4) Dykxhoorn, D. M. and Lieberman, J. : *Cell*, **126**, 231-235(2006).
5) Gregory, R. I. *et al.* : *Cell*, **123**, 631-640(2005).
6) Rand, T. A. *et al.* : *Cell*, **123**, 621-629(2005).
7) Tomari, H. and Zamore, P. D. : *Genes Dev.*, **19**, 517-529(2005).
8) Hammond, S. M. : *FEBS Letter*, **579**, 5822-5829(2005).
9) Ambros, V. : *Nature*, **431**, 350-355(2004).
10) Liu, J. *et al.* : *Nature Cell Biol.*, **7**, 1261-1266(2005).
11) Liu, J. *et al.* : *Science*, **305**, 1437-1441(2004).
12) Carmell, M. A. *et al.* : *Genes Dev.*, **16**, 2733-2742(2002).
13) Yuan, Y-R. *et al.* : *Mol. Cell*, **19**, 405-419(2005).
14) Song, J-J. *et al.* : *Science*, **305**, 1026-1032(2004).
15) Miyoshi, K. *et al.* : *Genes Dev.*, **19**, 2837-2848(2005).
16) Saito, K. *et al.* : *Genes Dev.*, Epub Aug 1(2006).

RISC（RNA induced silencing complex）

RNAi 経路において中心的な役割を示す複合体。ガイド siRNA と結合した hAgo2 を含んでいる。初期、RISC が標的 mRNA の切断をするとされていたが、その後の解析からその中に含まれる hAgo2 が実際に標的を切断する酵素因子（Slicer）である事が示された。ショウジョウバエを用いた解析からは、RISC は 80S 程の大きさであると報告されている（holo-RISC）。miRNA を含む RISC を miRISC と呼んだりする。

P-body（processing body）

細胞質内に存在するタンパク質と mRNA の凝集体。mRNA 分解因子である Xrn1 やデキャッピング酵素 Dcp1/Dcp2 などが多く含まれる。リボソームを含まない。翻訳の基質とならない mRNA がここに集まり分解される。あるいは特定の mRNA を翻訳の場から回避状態に置く役割を担う。GW-body とも呼ばれる。ダイナミックな凝集体であり、ストレス、翻訳抑制によって細胞質内の数は増加する。

Information

第 22 回　Wako ワークショップ

「新たな生命科学、エピジェネティクスの可能性」

開催日時：平成 18 年 11 月 24 日（金）
9：50 ～17：30
開催場所：全電通ホール
東京都千代田区神田駿河台 3 - 6
TEL：03-3219-2211
総合企画：東京大学大学院農学生命科学研究科
細胞生化学研究室　教授　塩田　邦郎

参加申込先：和光ホームページよりお申し込み下さい。
URL：http://www.wako-chem.co.jp
定　　員：300 名（申込先着順）
参 加 費：無料
問合せ先：和光純薬工業株式会社　試薬営業本部
学術部 / ワークショップ係
TEL：03-3270-8243

◎ 講演プログラム ◎

開会挨拶　和光純薬

□はじめに（10：00～10：20）
【エピジェネティクスの時代】　東大院農　塩田　邦郎
私たちの身体は、全て同じゲノム情報を持つ数百種類の細胞から構成されている。細胞の多様性は、ゲノム配列だけでは理解できない。様々な生命現象、特に健康と病気に、遺伝子制御の記憶装置—エピジェネティクス—の光を当てる。

□エピジェネティクスの基礎（10：20～12：40）
【DNA メチル化による哺乳類胚発生エピジェネティクス制御】　理研 CDB　岡野　正樹
【ヒストンメチル化と生命機能制御】　京大ウイ研　眞貝　洋一
【生殖細胞の特性を規定するエピジェネティック制御】　東北大加齢研　松居　靖久
【胎盤のエピジェネティクス】　東大院農　田中　智

□エピジェネティクス異常とがん（13：40～15：25）
【エピジェネティクス機構による細胞制御と病態】　熊大発生研　中尾　光善
【がんにおける DNA 修復遺伝子のエピジェネティックな発現抑制機構】　佐賀大医　副島　英伸
【過去の発がん因子暴露と将来の発がんリスクマーカーとしての DNA メチル化】　国立がんセ研　牛島　俊和

□エピジェネティクスと慢性疾患（15：55～17：05）
【うっ血性心不全を特徴づけるエピジェネティック変化】　自治医大　間野　博行
【小児自閉症治療に向けたエピジェネティクス研究の展開】　山梨大院医工　久保田健夫

□おわりに（17：05～17：20）　東大院農　塩田　邦郎

閉会挨拶　和光純薬

自動最適化を利用したポジティブリスト制対応の通知法メソッドの開発

アプライドバイオシステムズジャパン株式会社　アプライドマーケット事業部　マーケティング部　川俣　公彦
質量分析システム事業部　アプリケーションサポート部　大関由利子

はじめに

今年５月29日より食品に残留する農薬および動物用医薬品の規制が大幅に変更になりました。いわゆるポジティブリスト制（図１）がスタートしたことはこの分野に携わっている方であれば多くの方がご存じかと思いますが、残念ながら一般消費者や分野外の方にとっては今ひとつ浸透していないように感じます。しかし、食品会社、分析会社、食品輸入会社といったところからのお問い合わせは法律施行後も益々増加しており、今回の制度が与えた影響の大きさもさることながら、実際の現場ではどのように対応してよいのか混乱しているケースも珍しくありません。

一方、私ども分析機器メーカーにとって今回のポジティブリスト制はビジネスチャンスでもあり各メーカーがこぞってポジティブリスト制対応を謳い、セミナーや学会等で盛んにPRしている状況でもあります。そのような状況のなかで我々Applied Biosystems/MDS SCIEXはこのポジティブリスト制に対して単純なハードウエアのスペックや、ソフトウエアの機能だけではなく、すべてのお客様が真に必要とするデータを得るために最適なハードウエアとソフトウエアとはどのような物かということに主眼を置きソフトウエア及びハードウエアの開発を行ってきました。今回ご紹介させていただきます自動最適化を利用した通知法メソッド開発もその一環であり、既にポジティブリスト制に対応されている方にとっても、また、これから対応をされる方にとってもこのメソッドが有益な物であると考えております。

図１.

通知法の概要

まずはこの通知法について簡単に説明します。ここで言う通知法とはポジティブリスト制に対して厚生労働省が通知した農薬や動物用医薬品の一斉分析法であり、分析対象や使用機器によりいくつかの種類があります。弊社が取り扱っているLC/MS(/MS）に関係する通知法は平成17年11月29日に制定された「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について（一部改正）」の第２章に一斉試験法として「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ｉ」および「一斉試験法Ⅱ」として定められ、通知法Ｉで42種類、通知法Ⅱで25種類（いずれも異性体を含む）の農薬一斉分析法が該当します。

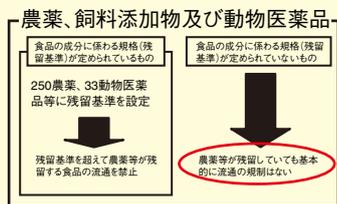
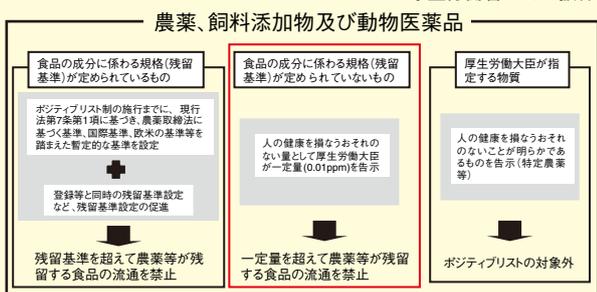
通知法そのものにはサンプルの前処理方法、移動相条件、定量限界、測定イオン等の情報が記されていますが、LC/MS/MSの細かい条件についてはそれぞれのメーカーに合わせた最適条件を見つけ出す必要があります。

Applied Biosystems/MDS SCIEX
3200 Q TRAP® LC/MS/MS システム

メソッドの開発手順

それでは今回弊社で実施致しました通知法ＩおよびⅡのメソッド開発について説明させて頂きます。メソッド開発にはApplied Biosystems/MDS SCIEXの3200 Q TRAP® LC/MS/MSシステムを用い、標準試薬は和光純薬工業株式会社製の標準試薬サンプル（各単品農薬20ppmを希釈したもの）を使用してメソッド開発を行いました。

メソッド開発の流れとしては最初に標準試薬をシリンジポンプで一定流速にてMSに導入し、各電圧値を最適化した単成分のメソッドを作成後、各成分のメソッドを合わせて一斉分析用メソッドを作成します。

標準サンプルの最適化はAnalyst® ソフトウエアの機能の一つであるQuantitative Optimizationを用いて実施します。Quantitative Optimizationは分析に必要な装置の各電圧パラメーターを自動的に最適化してくれる機能で、一成分当たりおおよそ２～３分でパラメーターが最適化されます。ここで最適化される電圧パラメーターは化合物依存であり移動相や流量にはほとんど影響されません。一方で各ガス量やヒーター温度といったイオン化効率に関わるパラメーターは移動相の組成、pH、流速及び化合物の熱安定性に依存しております。これら

のパラメーターも同じように自動的に設定することが可能ですが、多成分一斉分析の場合化合物ごとに実施する必要はありません。

Quantitative Optimizationで実際にどのようなパラメーターを決定するのかを示した図が（図２）になります。Quantitative OptimizationはMRMトランジション（プリカーサーイオン＞プロダクトイオンの組み合わせ）を複数作成することが可能ですが、それでは食品残留物質分析においてどのくらいMRMトランジションを作成すべきでしょうか？

ある農薬や動物用医薬品が「検出された」と判断する方法として一般的に行われているのが、１成分に対してMRMトランジションを２つモニターし、これらのイオンの強度比率が設定した基準値以内に入っているということでその存在を確認する方法です。しかしながら２つのMRMトランジションだけでは複雑なマトリックス（夾雑物）を持つ食品分析において同じMRMトランジションを持つイオンが十分存在しうるため、最終的な確認用として弊社では１成分に対して６つのMRMトランジションをモニター出来るようにメソッドを開発しています。

もう一つの確認方法としてスペクトルライブラリを用いた方法があります。3200 Q TRAP® LC/MS/MSシステムをはじめとするリニアイオントラップ機能を持つ弊社のLC/MS/MSを用いれば、定量限界値程度の濃度であってもリニアイオントラップ機能により定量分析と同時に、プロダクトイオンのスペクトル（MS/MSスペクトル）を高感度で取得することが可能（図３－４）であるため、事前に標準品のMS/MSスペクトルをライブラリに登録し、MS/MSスペクトルを比較することで比較的簡単に結果の査証を取ることが可能です。

留意点

このようにして作成されたメソッドを組み合わせ、１つのメソッドにすることで一斉分析用のメソッドが完成します。しかしながら単純に組み合わせただけではいくつかの問題が発生する可能性があります。一つはイオンサプレッションという問題で、特にESI法でイオン化を行う際にこの問題が発生する可能性があります。イオンサプレッションとはある成分がイオン化する際に他の成分も一緒に存在しているとイオン化の競争反応が起こり、単成分でイオン化させたときよりも強度が低く（高く）観測されるという現象です。実際の食品分析においては食品由来の夾雑物がイオンサプレッションの原因になることがほとんどで一斉分析の際、実際にカラムを通した時の保持時間を考慮して食品由来の夾雑物と各成分がなるべく分離するように移動相の条件を決定したり、サンプル濃度を薄くしたり、場合によっては成分を取捨選択することも必要となります。

もう一つはデータ取り込み時間（Dwellタイム）の設定です。多成分になればなるほど１成分当たりのデータ取り込み時間を少なくする必要があります。定量分析を行う際には１つのピークに最低でも10ポイント以上とることが必要です。もし100成分の一斉分析を行う場合、１成分当たり20msecのDwellタイムで分析すると単純に計算して２秒に１ポイント得られます。この場合、成分ピークが20秒以内で溶出するとピーク内ポイントが10ポイントに満たず、定量するにはポイントが少な

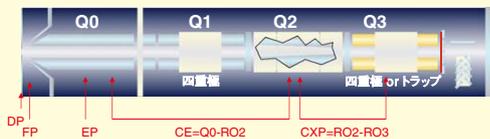
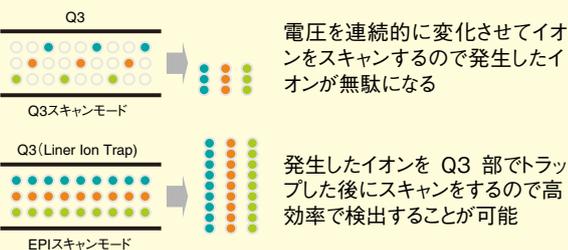
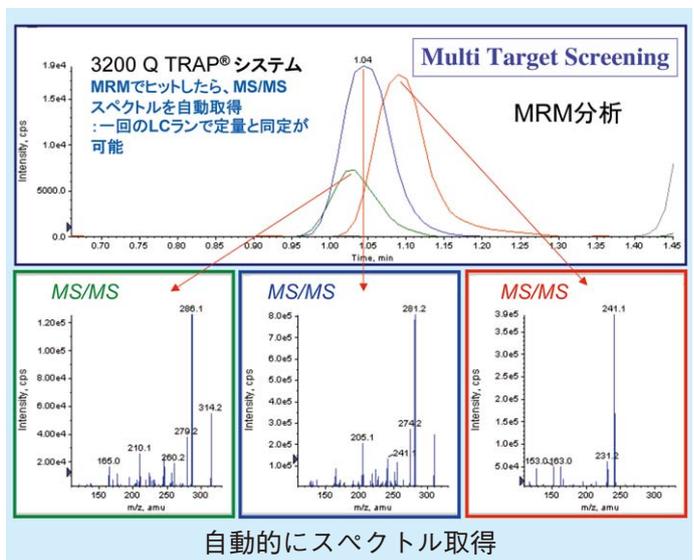
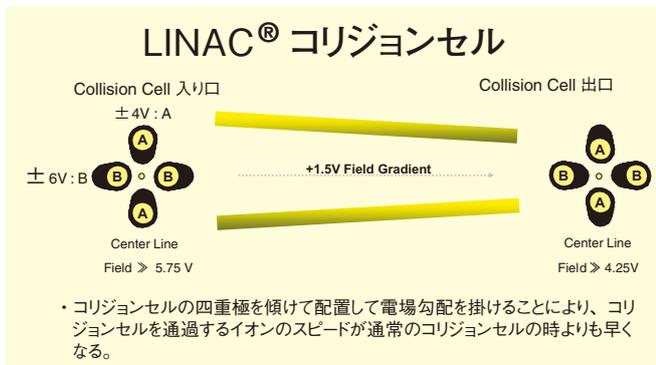
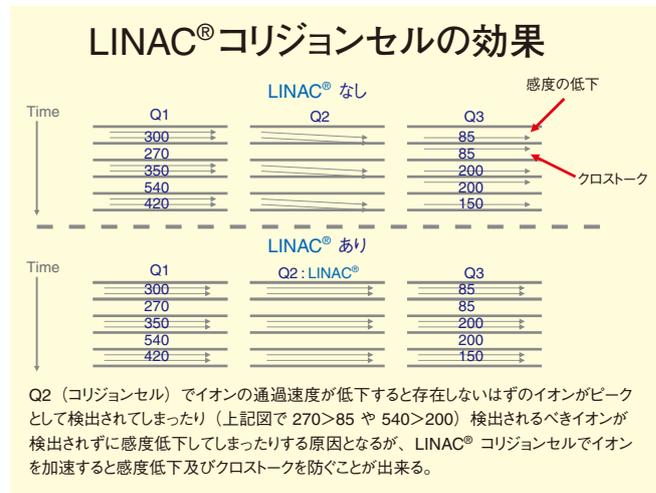
図２．

図３．

図４．

図５.

Q2（コリジョンセル）でイオンの通過速度が低下すると存在しないはずのイオンがピークとして検出されてしまったり（上記図で 270>85 や 540>200）検出されるべきイオンが検出されずに感度低下してしまったりする原因となるが、LINAC® コリジョンセルでイオンを加速すると感度低下及びクロストークを防ぐことが出来る。

図６.

すぎるのでこの場合Dwellを短くする必要があります。一方でDwellタイムを短くしすぎるとコリジョンセル内にプロダクトイオンが残留するため感度の低下を招いたり、次の成分由来のプロダクトイオンとの混交（クロストーク）が起こり、成分の区別が出来なくなったりする可能性があります。そのためApplied Biosystems/MDS SCIEXのLC/MS/MSにはコリジョンセル内のプロダクトイオンを加速して排出するLINAC® コリジョンセルを搭載し、クロストークが発生しにくくする工夫をしております（図５－６）。また、Ｑ３の値が同一である成分のデータ取得の順番を離してメソッドを組むことでもクロストークのリスクを低減できます。

最後に

今回、作成された通知法メソッドで一斉分析した例が（図７）になります。初めに触れたとおりメソッドは成分ごとに作られておりますので一斉分析を行うにはメソッドを一つにまとめる必要があります。このようなときMerge MRM Methodsというスクリプト（ソフトウエアの機能）を用いると成分ごとに作成されたメソッドを選択するだけで１つのメソッドにまとめることが簡単にできます。さらに、まとめたメソッドはConvert Methodというスクリプトを使用することでApplied Biosystems/MDS SCIEXのAPIシリーズ及びQ TRAP® シリーズのすべてのLC/MS/MS用に変換することが可能です。このConvert Methodで変換されたメソッドは変換後の装置の特性が考慮されているため、良好な感度で分析を行うことが可能です。また分析条件が変更になった場合（カラムや溶離液条件の変更）には解析用メソッドの各成分の保持時間の情報を書き換える必要があります。このとき、多成分分析であればあるほどメソッド上で１成分毎に手直しするのは大変ですが、Create Text File from Quan Methodというスクリプトで解析用メソッドをテキスト形式にすることで、MS Excelなどで容易に編集することができます。

こういったスクリプトは弊社では正式に動作保証しておりませんので使用に関してはあくまでも自己責任になりますが、Analyst® ソフトウエアを便利にお使いいただけるツールとして配布しておりますので是非ご活用ください。

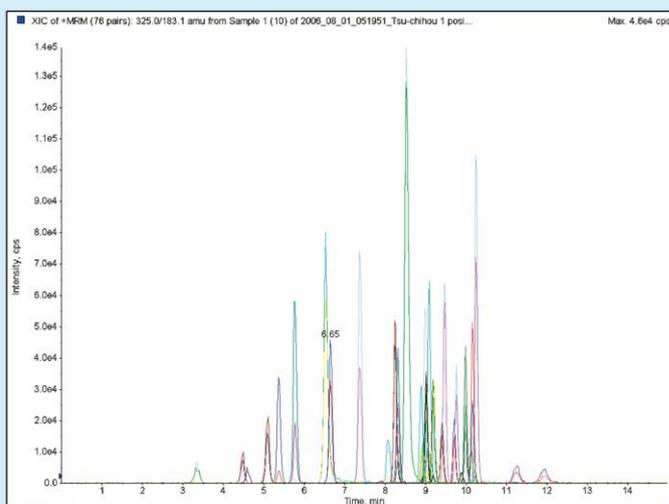
最後になりますが今回のメソッド開発に多大なるご協力をいただきました和光純薬工業株式会社様に感謝申し上げます。

通知法一斉分析例（10ppb）
3200 Q TRAP® LC/MS/MS システムを用いて分析

図７.

「ポジティブリスト関連品目　農薬混合液」
商品の詳細は P. 22 をご参照下さい。

GC/MSによるポジティブリスト農薬の一斉分析

株式会社島津製作所　応用技術部　東京カスタマーサポートセンター　岡村　嘉之

輸入食品の増大や、食品中への農薬等の残留に関する消費者の不安の高まり等から、平成15年5月に食品衛生法が改正され、一定量以上の農薬、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」と略）が残留する食品の販売等を禁止する制度、いわゆるポジティブリスト制度が平成18年5月29日より施行されている。本制度の導入にあたり、現在世界的に使用されている約800の農薬等について残留基準値が設定され、対象となる物質数は今後も増加すると考えられる。効率的な分析のために、農薬等の検出において固相カートリッジを使用した前処理方法と共に、多成分一斉分析が可能である質量分析計（MS）が一斉分析試験法として採用された。農薬多成分一斉分析を行う際に、農薬標準品を単品として全て揃えることは費用面と維持管理において非常に負担が大きいため、試薬メーカーから販売されている混合標準品が広く利用されている。和光純薬工業より発売された農薬混合液PLシリーズは平成17年度に通知されたGC/MSによる農薬等の一斉分析法[1]にて示されている農薬を基に調合されており、GC/MSにより食品残留農薬一斉分析を実施する際に便利な試薬である。PL-1-1～PL-6-1, PL-9-1, PL-10-1を全て混合すると、この混合溶液（以下PL混合溶液とする）は約250成分の混合標準液が調製できる。PL混合液を1mg/Lに調製し、島津製作所GCMS-QP 2010にてスキャン測定を行ったトータルイオンクロマトグラムをFig. 1に示した。スキャンモードはMS測定条件の設定が容易であり、定性能力が優れているが、感度では選択イオン検出法（SIM）が優れている。SIMの条件設定ではピークが近接した成分を同一グループとし、ピーク間隔の空きにより幾つかのグループ分けを行う。PL混合液の分析では対象成分が連続的に溶出しピーク間隔の隙間が確認できず、一度に全成分の測定を行うSIMメソッドの作成は困難であったため、二回の測定で全成分に対応したメソッドを作成した。二分割した各SIMメソッドの分析条件設定は島津製作所GCMS制御ワークステーションGCMSsolution Ver 2.50に搭載されているSIMテーブル自動作成機能により行った。SIMテーブル自動作成では煩雑な手入力を必要とせずSIM分析条件設定を行うことができるため、農薬等の多成分一斉分析では非常に有効な機能である。SIMテーブルの自動作成機能により作成した二つのSIMメソッドにより測定したクロマトグラムをFig. 2およびFig. 3に示した。このメソッドにより約250成分のSIM一斉分析が可能であったことから、農作物試料（玄米）による添加回収試験を行った。試料の前処理は厚生労働省より通知された「農作物GC/MS一斉分析試験法」[1]に従って行った。添加回収試験の結果をFig. 4に示した。マトリクス効果により回収率が高く求められた農薬が幾つか認められたが、ほとんどの成分が回収率70～120％の範囲内で良好な回収率であった。幾つかの農薬では回収率が低かったが、これらは畜水産物一斉分析法にて検討された農薬で、農作物一斉分析試験法では回収できなかったと考えられる。

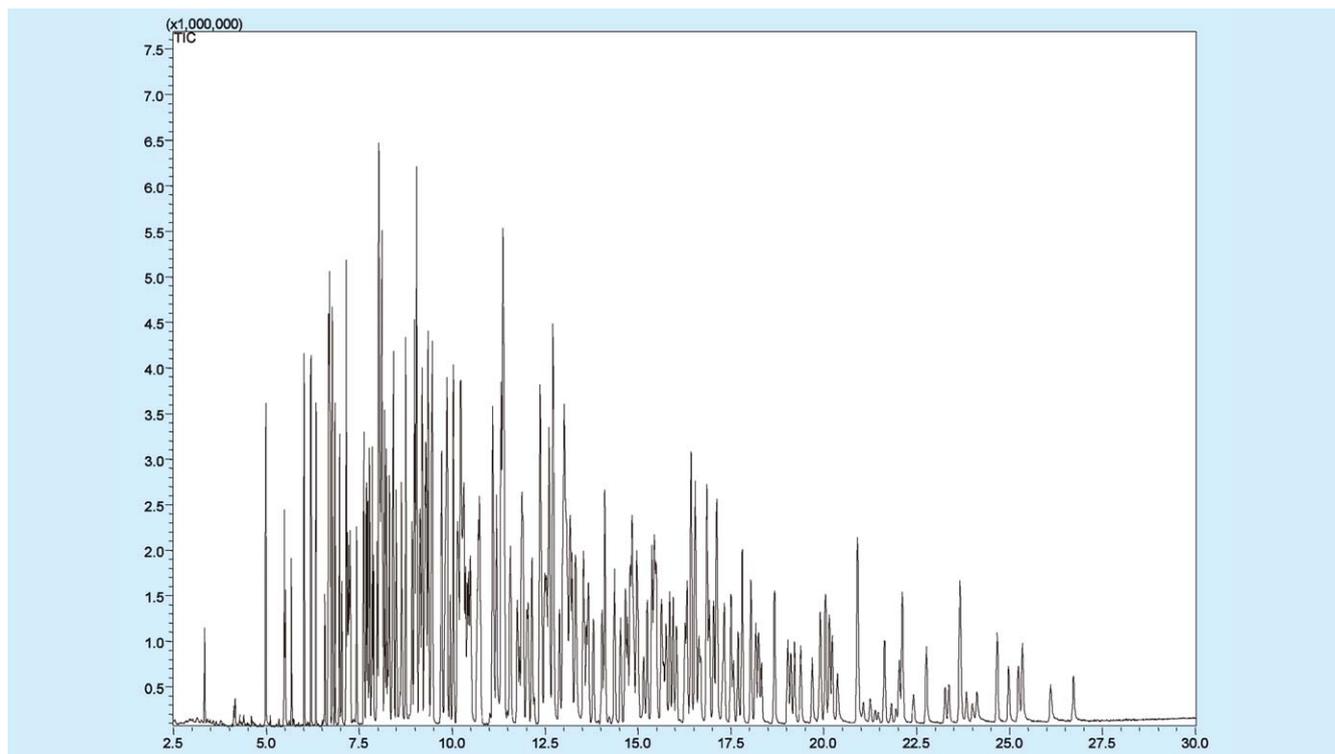



Fig. 1. 和光純薬 PL シリーズ 1mg/L 混合標準溶液スキャン測定トータルイオンクロマトグラム

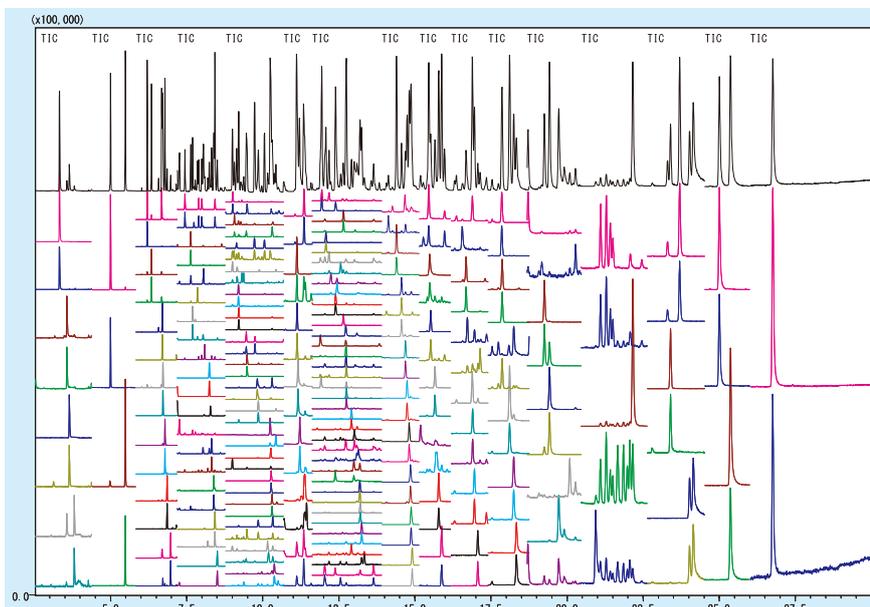



Fig. 2. 和光純薬 PL シリーズ 100 μg/L 混合標準溶液メソッド 1 SIM 測定クロマトグラム

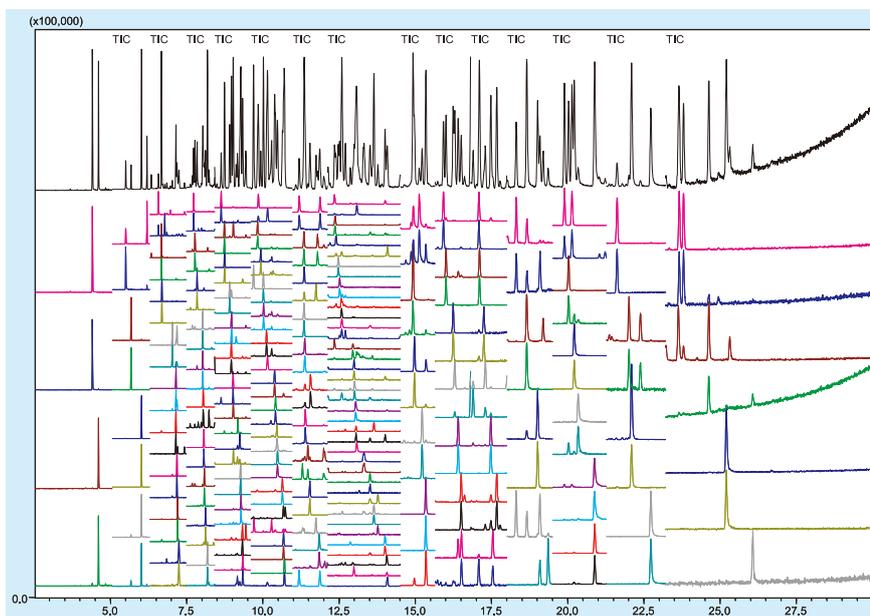
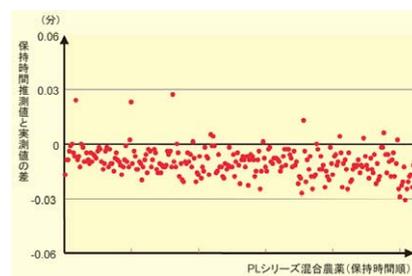



Fig. 3. 和光純薬 PL シリーズ 100 μg/L 混合標準溶液メソッド 2 SIM 測定クロマトグラム

Fig. 4. 玄米添加回収試験結果

Fig. 5. AART 評価結果

GC/MSによる食品残留農薬分析においては夾雑成分を多く含む実試料を対象とするため、注入口ガラスインサートとカラムのメンテナンスが重要である。注入口ガラスインサートの汚染は主に分解性の高い農薬に影響を及ぼし、カラムの汚染や劣化はピーク形状の悪化を引き起こす。いずれも対象成分の感度や測定精度を低下させる。ガラスインサートは定期的に交換を行うことで性能維持が可能であり、カラムの汚染や劣化の対処にはカラム切断が有効である。しかし、カラムの切断により保持時間が変動してしまうため、目的成分の同定をやり直す必要がある。さらに、SIMテーブルを再編集しなければならないため、カラムメンテナンスは避けたいというのが本音である。GCMSsolution Ver. 2.50では保持指標を用いた保持時間自動補正機能（Automatic Adjustment of Retention Time：AART）を世界で初めて搭載した。AARTによる保持時間自動補正は*n*-アルカンの標準品を一度測定し、この結果から保持時間の理論値を算出する。PLシリーズ混合溶液測定におけるAART理論値と実測値との差をFig. 5に示した。この差は最大でもわずか0.03分程度（約1.8秒）であった。AARTでは非常に精度の高い保持時間補正が可能であり、この高精度な保持時間補正を利用してSIMテーブルを自動で再編集させることもできる。AARTの利用によりカラムメンテナンス後やカラム交換での設定修正が軽減され、高精度な測定を維持することができる。最新のGC/MSによる農薬多成分一斉分析では、この様な機構を利用することにより、高い分析精度を維持して行うことが可能である。

〔参考文献〕

1）http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/zanryu3/dl/051129-1.pdf

「ポジティブリスト関連品目　農薬混合液」商品の詳細は P. 22 をご参照下さい。

Technical Report

無細胞タンパク質合成試薬キット　Transdirect™ *insect cell* の紹介

株式会社　島津製作所　江連　徹

無細胞タンパク質合成系とは

生命の設計図とも言えるゲノム情報が多くの生物種で解読される中、ポストゲノム研究として、遺伝子産物であり生命現象の中心的役割を担うタンパク質の機能解析が重要となってきている。タンパク質の翻訳後修飾や相互作用、立体構造の情報を得ることは生命現象を解明する上で重要な手がかりとなるが、このような機能解析を行う上では対象タンパク質を「つくる技術」が鍵となる。これまでは大腸菌や培養細胞などを利用したタンパク質生産系が主流であったが、最近は細胞抽出液を用いて試験管内で合成を行う無細胞タンパク質合成系も利用されるようになってきた。

無細胞タンパク質合成系は、翻訳に必要な成分（リボソームや翻訳因子など）を含む細胞抽出液と目的タンパク質をコードするmRNAや基質となるアミノ酸、反応に必要なエネルギー源などを混合した溶液中でタンパク質を合成する手法である（mRNAの代わりにDNAを鋳型とし、転写と翻訳を共役させることもある）。生細胞を用いる発現系と比較すると、操作が簡便であり、複数のタンパク質の共発現が容易、細胞毒性のあるタンパク質でも合成可能、非天然アミノ酸の導入が容易など、複数の利点を有している。

これまで様々な生物材料より調製した抽出液を用いて研究が行われてきており、現在では大腸菌、小麦胚芽、ウサギ網状赤血球を用いたものが試薬キット化され市販されている。近年、この技術は日本を中心として活発に研究が行われ、大腸菌や小麦胚芽を用いた系は合成量が飛躍的に向上し、RIによる機能解析用途だけではなく、タンパク質を取得する用途そのものに利用されるようになってきている。我々は、タンパク質を取得可能なレベルを目標として、近年タンパク質生産系として注目を集める昆虫細胞から調製した抽出液を用いて、昆虫細胞由来の無細胞タンパク質合成系構築に取り組み試薬キット化した[1]。

Transdirect™ の特徴

Transdirect™は既存の試薬キットとは異なり、バキュロウイルスを用いた組み換えタンパク質生産にも広く利用されているSf 21昆虫細胞（*Spodoptera frugiperda* 卵巣細胞由来）の抽出液を利用している。抽出方法や抽出時に添加する試薬を工夫することで、抽出液は無色透明で複数回の凍結融解に対しても安定となっている。ウサギ網状赤血球の系でみられるような多量に含まれるヘモグロビンの影響で可視光線が吸収され、タンパク質の光学測定が困難になるといったこともない。

また本キットには、高効率にタンパク質合成を行うための専用発現ベクターpTD 1（Accession Number：AB 194742）を添付している[2]。無細胞タンパク質合成系においては、開始コドン上流に位置し翻訳を促進する効果を示す塩基配列が知られている。ウサギ網状赤血球系におけるβ-グロビン遺伝子リーダー配列やコムギ胚芽系における植物ウイルスΩ配列がそれにあたる。我々は、これらの配列も含めSf 21細胞抽出液に適合する塩基配列の検索を行い、バキュロウイルスの一種であるMnNPV（*Malacosoma neustria* nucleopolyhedrovirus）のポリヘドリン遺伝子5'非翻訳領域中に最も効果のある配列を見出した。pTD 1には、この翻訳促進配列（Polyhedrin 5' UTR）をはじめ、mRNA合成用T 7プロモーター配列、マルチプルクローニングサイト（MCS）、polyA領域などのmRNA合成からタンパク質合成に関わる全ての因子が含まれている。

さらに、反応バッファは複数のモデルタンパク質を用いて、特にK^+やMg^{2+}イオン濃度を調整することで基本的にどのタンパク質でも最適な合成が行えるように至適化されている。

このようにTransdirect™は、安定な細胞抽出液と至適化された発現ベクター、反応バッファとの組合せによって、非常に効率のよいタンパク質合成を行うことができる（反応液1 mLあたり30－50 μg）世界で初めての昆虫細胞由来の試薬キットとなっている。この合成量は、これまで唯一の動物細胞由来であったウサギ網状赤血球の系と比較して10倍以上の値である（*Wako Biowindow*, 73, 7（2006).）。

実 験 例

リンク法による無細胞タンパク質合成

無細胞タンパク質合成法には、DNAを鋳型とし、転写と翻訳を共役させる反応法（以下共役反応）とmRNAを鋳型として翻訳反応のみを行う反応法がある。Transdirect™のタンパク質合成法は後者となるが、従来ウサギの系などにおいて共役反応を行ってきた研究者にとって、mRNAの精製は時間もかかり、操作も煩雑であるという意見を聞く機会が多い。そこで我々は、このmRNAの精製を省略する反応法（リンク法）について検討した。

mRNAの精製が必要な最も大きな理由として、転写反応液中のマグネシウム塩の濃度が挙げられる。通常、市販のRNA大量合成キットは、T 7RNAポリメラーゼなどのファージ由来RNAポリメラーゼを利用しており、この転写反応液中には高濃度のマグネシウム塩が含まれている。一方で、翻訳反応におけるマグネシウム塩の至適濃度は低濃度であり、またタンパク質合成活性がマグネシウム塩の濃度に強く依存しているため、転写反応液は直接使用できず、mRNAの精製が必要とされてきた。そこでリンク法では、転写反応液を直接タンパク質合成に使用する際、EDTAを添加することで過剰なマグネシウムイオンをキレートし、通常では低下してしまうタンパク質合成効率の改善を試みた。

方　法

T 7 RiboMAX™ Express Large Scale RNA Production Systemを用いてmRNAを合成した。この転写反応液2 μLを直接使用し、50 μLスケールにてリンク反応を行った。反応液組成を表1に示す。その際に、25 mM EDTAを表2に示す

表1．リンク反応における反応液組成

mRNA合成反応液	2 μL
Reaction Buffer	15 μL
4 mM Methionine	1 μL
Insect Cell Extract	25 μL
25 mM EDTA溶液	表2参照
滅菌蒸留水	50 μLに調整

割合で反応液に添加し、EDTAの反応液中における濃度を0 mMから2.5 mMにコントロールした。反応終了後、β-ガラクトシダーゼ活性を測定し、精製したmRNAを用いた場合と比較した（図1）。

結　果

上記キットを用いた場合、反応液中のEDTA濃度は1.5 mMが至適であり、精製したmRNAを用いた場合の約85％の合成量を見込めることが明らかとなった。リンク法における至適反応液組成を表3に示す。またリンク法に用いるRNA大量合成キットについて制限はなく、CUGA 7 *in vitro* Transcription Kit（㈱ニッポンジーン）を用いることも可能である。ただし、キットによって、EDTAの至適濃度が多少異なる可能性があるため、今回の実験例のような至適化を予備実験として行うことを推奨する。

このようにTransdirect™は、ウサギ網状赤血球の系と比べ合成量も多く、従来ウサギの系などにおいて共役反応を行ってきた研究者にとっても使いやすい仕様となっている。

表2．EDTA溶液の添加量と反応液中での最終濃度

EDTA最終濃度〔mM〕	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
25 mM EDTA添加量〔μL〕	0	1	2	3	4	5

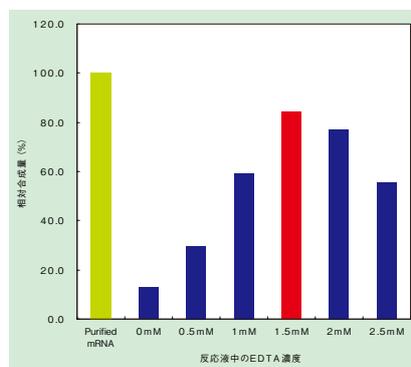



図1．

この他、mRNAの濃度を調節することにより多量体タンパク質を任意の組成で合成できる例（*Wako Biowindow*, 75, 7 (2006).）、イヌ膵臓ミクロソーム膜の添加により糖鎖修飾されたタンパク質が合成できる例などがある。また最近、反応液から還元剤を除去することでジスルフィド結合を有するタンパク質も活性型で取得可能であることがわかった。これらの実験例はWEBサイトで閲覧可能であるので、是非一度御覧いただきたい。

http://www.wako-chem.co.jp/siyaku/info/gene/article/TransdirectInsectCell.htm

〔参考文献〕

1) Ezure, T. *et al.*: "Cell-free protein synthesis system prepared from insect cells by freeze-thawing.", *Biothecnol. Prog.*, in press (2006).

2) Suzuki, T. *et al.*: "Performance of expression vector, pTD1, in insect cell-free translation system.", *J. Biosci. Bioeng.*, **102**, 69-71 (2006).

表3．リンク反応における最適反応液組成

mRNA合成反応液	2 μL
Reaction Buffer	15 μL
4 mM Methionine	1 μL
Insect Cell Extract	25 μL
25 mM EDTA溶液	3 μL
滅菌蒸留水	4 μL

Sf21 昆虫細胞：
ヨトウガである *Spodoptera frugiperda* 卵巣細胞由来の培養細胞である。昆虫細胞は哺乳類細胞と異なり無限に細胞分裂を繰り返すことができるうえ、培養には CO_2 インキュベーターも必要としないため扱いやすく、バキュロウィルスを用いた組み換え蛋白質生産の手法が確立するとともに広く利用されるようになった。

糖鎖修飾：
多くの蛋白質は、DNAの遺伝子情報からmRNAを経て蛋白質に翻訳された後、さらに糖鎖や脂質、リン酸の付加など様々な修飾（翻訳後修飾）を受け、生理活性を持つことが知られている。これら翻訳後修飾の中で糖鎖がもたらす機能を解明する生理学的および病理学的研究は、ポストゲノム研究の重要課題の一つと位置付けられ、現在、各研究機関によって精力的に研究が行われている。

Technical Report

細胞培養のための添加因子としての絹タンパク質セリシン

福井大学大学院　工学研究科　寺田　聡

1 動物細胞培養の現状

現在、動物細胞培養を利用した産業が急速に展開されている。すなわち、抗体医薬やエリスロポエチンなどのいわゆるバイオ医薬品は、いわゆる翻訳後修飾の理由で動物細胞培養によって生産されている。また、培養皮膚や幹細胞移植、ガンに対する養子免疫といった再生医療や細胞治療の分野では、単離された有用細胞を培養下で増幅したり、あるいは活性化したのち、細胞そのものを利用している。このような目的で実施される細胞培養では、培養効率が高いことは当然のこととして、「感染の懸念のない」安全性が何より重視される。

そういう観点から、「牛胎仔血清」にかわる因子の探索が求められている。ヒトを含め細胞培養のための培地には、グルコースやアミノ酸といった基質だけでなく、いわゆる成長因子の添加が不可欠である。成長因子にはインスリンやトランスフェリン、サイトカイン類など多数が知られているが、これら既知の因子だけでなく未知因子も細胞培養には重要である。そのため、既知・未知を問わず多様な増殖因子を豊富に含む牛胎仔血清は、培養添加因子として広汎に利用されているのが実状である。このように牛胎仔血清は細胞培養には有効であるものの、BSE（いわゆる狂牛病）などの感染が懸念され、医療を目的とした細胞培養では「無血清」培養が大きな課題となっている。

そのため、「無血清」さらには「哺乳動物由来の因子を全く含まない」培地が大いに期待されている。すでにいくつかそのようなものが開発されているが、まだまだ馴化に時間を要するなど、問題が多い。

2 絹タンパク質セリシン

われわれは、セーレン株式会社と共同で絹タンパク質セリシンに細胞増殖促進作用・細胞死抑制作用があること[1, 2]、また細胞凍結液に利用すると有効であることを見いだし[3, 4]、その利用可能性を検討してきた。セリシンは絹（カイコの繭）由来であって哺乳動物由来でないこと、また絹糸は手術糸として永年の利用実績があること、さらに、ほとんど活性を損なうことなくオートクレーブ滅菌できることから、安全性の極めて高い因子であると考えている。

セリシンはフィブロインと共にカイコ繭糸の主成分をなしており、分子量は数十万に及んでいる。セリシンの特徴はアミノ酸組成にある。すなわちモル組成の1/3をセリンが占め、アスパラギン酸とグリシンがそれぞれ1/6ずつとなっており、8%のトレオニンがそれに続く。このようなアミノ酸組成が原因となっているのか、SDS電気泳動後のクマシーブルー染色では不鮮明なバンドしか得られない。また、プロテアーゼによる分解も受けにくいといわれている。

ところで、繊維産業においてカイコ繭糸（生糸）から絹糸をえる工程を精練とよんでいる。この精練工程はアルカリ沸騰水に生糸を数時間浸しセリシンを除去する作業である。われわれが細胞培養に利用しているセリシンはこの工程で除かれたセリシンを精製した標品を用いている。高度に精製されたセリシンは、すでに化粧品に配合されるなどして利用されている。そして精練工程を経て得られたセリシンは、熱とアルカリによる加水分解を受けており、分子量でいうと数千から数万程度のさまざまな大きさのポリペプチドの集合体となっている。

3 セリシンによる細胞増殖促進効果

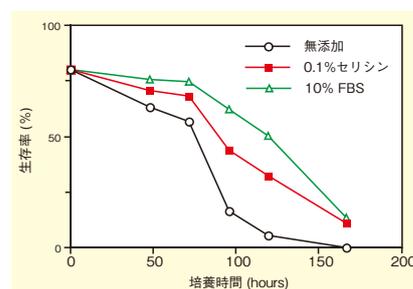
われわれはこれまでに、さまざまな細胞に対するセリシンの作用を調べてきた。とくに無血清下での細胞増殖については、増殖能を持つ細胞に対して検討したところ、効果に差はあるものの、検討したすべての細胞株に対して有効であった[1, 2]。いくつか列挙すると、ミエローマP3U1、これを親株に樹立されたハイブリドーマ2E3-O、ヒトヘパトーマHepG2、ラットインスリノーマRin5F、線維芽細胞BALB 3T3、HEK293、HeLa、CHOなどである。なお、増殖促進には0.01%（w./vol.）以上のセリシン濃度が必要で、最適な濃度はおよそ0.1%である。

また、ラット膵臓に由来するランゲルハンス島に対しても、セリシンを添加したところ、無血清下での体外培養期間を延長し、インスリン分泌を持続する効果を示した[5]。

図1．生細胞密度の経時変化

図2．生存率の経時変化

4 ハイブリドーマ細胞によるモノクローナル抗体生産系への適用

セリシンを用いた無血清培養が実際に有効かを検討する目的で、ハイブリドーマ細胞によるモノクローナル抗体生産系を対象に検討した。基礎培地として、日本製薬のダイゴT培地を選択し、①ダイゴT培地（日本製薬）のみ、②0.1%セリシン含ダイゴT培地、③10% FBSを添加したダイゴT培地、の

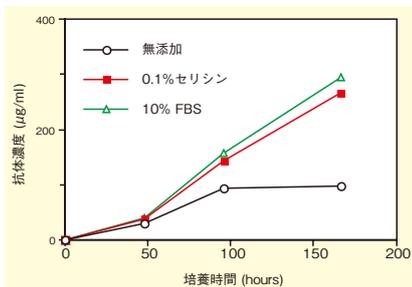



図３．培養上清中の抗体濃度

3つの条件で、比較した。

大部分の基礎培地では、血清かその代替因子を添加しないと細胞は数日以内に死滅する。ダイゴT培地のみの培養では４日目には細胞がほぼ死滅した。一方、0.1%セリシン含ダイゴT培地では生細胞密度・生存率がともに改善が見られたが、10% FBS含ダイゴT培地には劣っていた（図１，２）。一方、抗体産生については、セリシンを添加した培養は血清添加したものとほぼ同等の産生を示した（図３）。そのことは細胞１個当たりでの抗体産生量がセリシンを添加した場合の方が大きいことを示している。

モノクローナル抗体の生産系以外にも、セリシンを利用することで細胞培養の無血清化に成功している。HEK293細胞を利用したアデノウイルスベクター生産のシステムに適用したところ、無血清下で効率的なベクター生産を行うことができた[6)]。

5 おわりに 再生医療・細胞治療への貢献の期待

さらに、セリシンは細胞凍結にも有効である[3, 4)]。現在のところ、さまざまな細胞凍結液が開発されているが、もっとも一般的な凍結液は牛胎仔血清に10%(vol./vol.)のジメチルスルホキシドを添加したものである。血清を含む凍結液は、やはり医療目的に使う細胞に対しては利用しがたい。そこで、基礎培地などにセリシンを添加することで無血清の細胞凍結液が構築できないか検討したところ、１%(w./vol.)のセリシン添加で良好な無血清凍結液を構築できた。また、市販の凍結液にセリシンを添加するだけで細胞凍結解凍後の生存率を改善できる場合もあった。

このように、セリシンは、動物細胞培養の無血清化に貢献することができる。さらに優れた特性として、セリシンはオートクレーブにより滅菌することができる。大部分のタンパク質はオートクレーブによって変性し、活性が消失するため、ろ過滅菌が一般的な滅菌法である。しかしながらろ過滅菌ではマイコプラズマなどを完全に除くことができない問題点があった。

これに対して、セリシンはオートクレーブ滅菌を受けてもほとんどその活性が損なわれない。これは、セリシンはその調製の過程で沸騰水でのアルカリ処理を受けており、すでに加水分解されている。そのため、オートクレーブ滅菌をあらためて受けても分解が進まず、機能が保持されると考えられる。

このような特性から、とくに細胞治療や再生医療分野での細胞培養に適した添加因子としてセリシンが大いに貢献できるのではないかと期待している。

〔参考文献〕

1) Terada, S., Nishimura, T., Sasaki, M., Yamada, H. and Miki, M. : *Cytotechnology*, **40**, 3 (2002).
2) Terada, S., Sasaki, M., Yanagihara, K. and Yamada, H. : *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **100**, 667 (2005).
3) 寺田聡、熊谷智彰、小川亜希子、石村純一、三木正雄、尾崎克之、佐々木真宏、山田英幸：低温医学, **29**, 1 (2003).
4) Sasaki, M., Kato, Y., Yamada, H. and Terada, S. : *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **42**, 183 (2005).
5) Ogawa, A., Terada, S., Kanayama, T., Miki, M., Morikawa, M., Kimura, T., Yamaguchi, A., Sasaki, M. and Yamada, H. : *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **98**, 217 (2004).
6) Yanagihara, K., Terada, S., Miki, M., Sasaki, M. and Yamada, H. : *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **45**, 59 (2006).

SERIES 生薬のはなし－⑥

世界の薬用植物

お茶の水女子大学生活環境研究センター　佐竹　元吉

はじめに

1987年に出されたWHOのアルマータ宣言で、薬用植物が健康増進のために重要であるので、各国は広く薬用植物を用いるように述べている。その後のWHOは、伝統医療として薬用植物の有用性と安全性に関して多くのガイドラインを出している。

伝統医療のある国は、各国の健康増進プログラムで安全な利用方法を打ち出してきた。

伝統医療の導入が遅れていたアメリカは1994年に医療費の増大を抑える新方式をつくった。これは医薬品と食品の間に薬用植物、ビタミン、ミネラル等をおいて、予防的医薬品を利用し易くしたダイエッタリーサップルメントである。

このような薬用植物の利用拡大は、十分な安全性の検証がないままに急速に利用が拡大したために健康障害を起こす例が見られている。アメリカでのマオウの大量使用による死亡例やヨーロッパでの薬用植物の誤用による腎臓疾患の報告等がある。また、化学医薬品を服用している患者がセイヨウオトギリソウを飲んで、副作用や薬効が減退した例も報告されている。

Ⅰ　薬用植物の利用

(1) 薬用植物・ハーブとは何をさすのか、その効用は

薬用植物は人類の営みのあるところには必ず存在するので、その数は身の回りの約1割と考えられます。これらの植物は各民族が固有に持っていたものであったが、文明の交流で広く世界に知られるものになったものもあります。

身の回りの薬用植物を考えてみると、私たちは何時も元気でいればよいのですが、たまには体をこわすことがあります。その時用いたのが、身近な植物です。例えば、お腹が痛いときにはセンブリ *Swertia japonica* を飲み、下痢の時にはゲンノショウコ *Geranium thunergii* を飲み、便秘の時には、ドクダミ *Houtunia cordata* を飲んで元気を回復してきました。

これだけでは口から入って排泄する消化器系統しか治せません。日本人の知恵に中国の医学の利用法が加わり、多くの薬用植物が使われるようになりました。日本を代表する花のキクやサクラも薬用植物です。キク *Chrysanthemum moriforium* の花は目の疾患に用いる漢方処方に配合されます。サクラの樹皮は小児の咳止めに用いられています。園芸植物ではユリの球根、ボタン *Paeonia montan* の根皮、シャクヤク *Paeonia latifolia* の根、キキョウの根、果物類ではモモ *Prunus perisica* とアンズ *Prunus armeniaca* var. *ansu* の種（仁）、ウメ *Prunus mume* の果実、カキ *Diospyros kaki* の蔕（ヘタ）、ミカンの果皮等があります。日本の薬用植物を考えてみると自分たちで見つけて伝承的に使われてきたものと中国の体系化された医学が持ち込んだ薬用植物の二つがあります。

体系化された医学の薬物としては四大文明発祥の地にそれぞれ医学があり、エジプト文明及びメソポタミヤ文明（B.C. 3000年頃から）から、ギリシャ、ローマ文明を経由して西洋医学やアラブ医学に発展しています。インダス文明（B.C. 2500年頃より）はアユルベーダ医学に、中国文明（B.C. 2000年頃より）は漢方医学（中医学）に発展しています。これらの医学で用いられたのが、ケシ *Papaver somniferum* のアヘン、ジギタリス *Digitaris purupurea*、カンゾウ *Glycyrrhiza glabra, G. uralensis*、ゲンチアナ等がギリシャの文献に見られます。センナ *Cassia angustifolia* やインドジャボク *Rauvolfa serpentine* はアユルベーダ医学で、ニンジン *Panax ginseng*、ダイオウ *Rheum palmatum*、オウレン *Coptis japonica*、トウキ *Angelica actiloba* は漢方医学で使われています。

体系化された医学の無い地域や体系に含まれていない植物は個々に伝承され、現在まで受け継がれています。たとえば、アマゾンやアンデスの民間薬はこ

センブリ *Swertia japonica*

シャクヤク *Paeonia latifolia*

ゲンノショウコ *Geranium thunergii*

ケシ *Papaver somniferum*

センナ *Cassia angustifolia*

ドクダミ *Houtunia cordata*

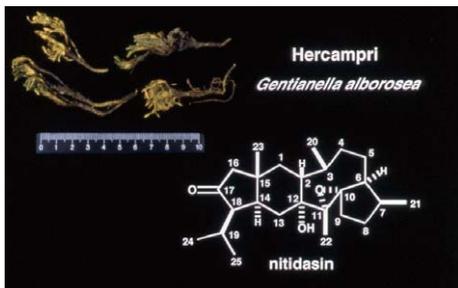
エキナケア *Echinachea angustifolia*

マリアアザミ *Silybum mariana*

れに属します。ヨーロッパに持ち込まれ西洋医学で使われるようになったトコン *Cephaelis ipecacuanha* やキナヒ *Cincona* sp.があります。現在でも広く用いられている薬用植物は多くは伝承薬に属します。例えば、インドネシアの民間薬ジャムウは多くの薬用植物を利用してきています。アメリカインディの民間薬であるエキナケア *Echinachea angustifolia*、マリアアザミ *Silybum mariana* やノコギリヤシは広く世界各国で利用されるようになってきました。これらのものの多くがハーブとして、薬品市場や健康食品市場で流通しています。

（2）薬用植物の名前

世界に薬用植物は何種類ありますかと聞かれることがあるのですが、これに答えるのはなかなかむずかしいことです。私たち人類が薬として使用したものが薬用植物であるとしても、個々の民族は個々の名前で呼んで利用してきています。たとえば、日本と中国と韓国が婦人病の薬と用いている生薬「当帰」は、それぞれの国が異なる3種の薬用植物を用いています。

日本ではトウキ *Angelica acutiloba* で、中国では *Angelica sinensis*、韓国では *Angelica gigas* です。ヨーロッパには類似したアンゲリカ根 *Angelica archangelica* があります。

各国はそれぞれ固有の薬用植物を利用しているが、大航海時代にヨーロッパの人達が世界の隅々まで進出した時に持ち込んだ薬用植物が一見現地名のような名前で一人歩きしている例もあります。たとえば、ゲンチアナ根 *Gentiana lutea* はヨーロッパの胃腸薬ですが、日本ではリンドウ（竜胆）*Gentiana scabr* var. *buergeri* をゲンチアナの代用に用いたことがあり、南米のペルーでは現地名ヘルカンブレ *Gentianella albrosea* をゲンチアナの代用に用いてきました。これらは同じ科の植物ですが、ワレリアナはセイヨウカノコソウ *Valeriana officinale* が基原植物ですが、日本ではカノコソウ *Valeriana fauriei* で同じカノコソウ科ですが、ペルーアンデスではキク科の植物 *Aperaria coerulescens* を用いています（写真）。

文字で表現されてきた地域は、薬用植物の数を数えることが出来ますが、文字文化のない地域では現在その地域の薬用植物をリストアップする研究が盛んに行われています。まだ学名のない植物もあり、その数は推測することしか出来ないのです。身の周りの植物を薬用に用いたことから考えると、それらの植物の10％ぐらいが薬用と思われます。

薬用植物を使わずに化学薬品のみに頼っている人は世界の人口の20％位にすぎなく、多くは薬用植物を用いた治療を行っています。身の廻りの植物を薬として用いている国は発展途上国の殆どです。一方、薬用植物を製剤として医療に使われている国もあります。最も多いのはドイツで、日本、中国、韓国、フランス、アメリカ等も多く使っています。2000年の売上高は4兆3千億円（Secretariats of the Convention on Biological Diversity（CBD）.）ですが、この5年間にアメリカが規格の整備により急増しています。

当帰 トウキ *Angelica acutiloba*

アンデスの薬草売りの左に置いてあるワレリアナと呼ばれる植物 *Aperaria coerulescens*

（3）世界の薬用植物の数

薬用植物は人類の営みのあるところには必ず存在するので、その数は膨大なものと思われます。先にあげたアメリカの例のように、世界各国の薬用植物の数はおよその目安として、分布種約300,000種の約1割の30,000種が薬用といえます。たとえば、日本では高等植物が約5,500種で、その中の薬用植物は約400種です。

世界の自然の宝庫アマゾンにはその16％が分布しているので、約8,000種の薬用植物があっても不思議ではありません。Harvard大学の民族植物学者R. E. Schultes（1990）の調査によると北西部アマゾン（ペルー、エクアドル、コロンビア、ブラジル）だけでも145科1,516種類の薬用植物があると報告しています。

しかし、広く利用されているものは約1,000種位にすぎません。

（4）世界の薬用植物と医学

伝統薬物を大きく2つに分けてみると、一つは体系化された医学での薬物と、もう一つは体系化された医学のない地域や体系に含まれていない薬物で、その植物は個々に伝承され、現在まで受け継がれています。

前者は世界の四大文明発祥の地で使われてきた薬用植物で、エジプト文明及びメソポタミヤ文明（B.C. 3000年頃から）から、ギリシャ・ローマ文明を経由して西洋医学やアラブ医学に発展し、そこで用いられた薬用植物でハーブとされるカミツレ、ラベンダー、ゲンチアナなどです。インダス文明（B.C. 2500年頃より）はアユルベーダ医学となり、インドジャボク、セイロンケイヒなど多くの薬用植物が用いられています。

中国文明（B.C. 2000年頃より）は漢方医学（中医学）に発展して、多くの薬用植物、たとえばダイオウ、ケイヒ、シャクヤク、カンゾウなどが治療に用いられています。

後者は文明がありましたが文字文化がなく、薬用植物に関する情報が一部しか伝承されていないため、新大陸のマヤやインカ文明では薬物名だけが民間薬として残っています。大航海時代に多くの文明が入り込み、独自の治療体系となったインドネシアの民間薬ジャムウ、その他、自分たちの経験から多くの薬用植物が見い出され使われてきました。アマゾンのインディオの薬草、アフリカの民間薬などこれらに関する成書（African Ethonbotany）が出版されています。日本のセンブリやゲンノショウコなどの民間薬も後者に属します。

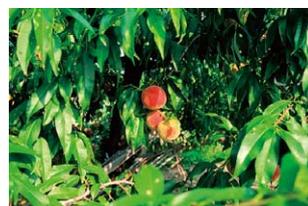
（5）文明の交流と薬用植物

エジプト文明及びメソポタミヤ文明（B.C. 3000年頃から）で用いた薬にはアロエ、ケシ、ゲンチアナ、ローズマリー、カミツレ、センナ、トリカブト、ヒマシ油、ヤナギなどがあります。インダス文明（B.C. 2500 年頃より）に用いた薬にはシタン、ニッケイの類があり、中国文明の漢方医学ではダイオウ、カンゾウ、ブクリョウなどが用いられてきました。

中国の医学は日本には６～７世紀に導入され、和漢医学として江戸時代に完成されました。和漢薬として知られているオウレン、トウキ、センキュウなど国内の植物を医学体系に用いるようになりました。

文明の交流を表した例として、不老長寿の薬と思われたザクロ（最近までは駆虫剤として使われていた）があります。ザクロはペルシャ原産で、エジプトで栽培され、ギリシャ・ローマを経て中国（紀元前２世紀頃）に渡り、平安時代に渡来した植物です。アロエやウイキョウもギリシャ・ローマを経由して唐の時代に中国へ伝えられたものです。

上薬の甘草

中薬の麻黄

（6）中国の薬用植物

中国の薬の歴史は古く、殷の遺跡の甲骨文に記載があり、馬王堆の遺跡（B.C. 160年）からは52種類の病気に242種類の薬物を使用した記載が見られます。

また、紀元１～２世紀頃に作られたという神農本草経には、365品目の薬物が上中下の３種類に区別して記載されています。上薬（朱砂、人参、甘草、地黄、朮、柴胡、遠志、石斛、桂枝、龍骨、麝香、牛黄など120品目）は無毒で滋養強壮に用い、中薬（石膏、生姜、葛根、当帰、麻黄、芍薬、貝母、淫羊藿、牡丹皮、厚朴、鹿茸、犀角など120品目）は発病を抑え、下薬（附子、半夏、大黄、桔梗、夏枯草、桃仁、杏仁、など125品目）は有毒で病気の治療に用いるとされています。現在、中国で薬用植物とされている種類は約5, 000種といわれています。

（7）化学医薬品と薬用植物

化学医薬品といわれるものの中にはモルヒネやコデインのように、植物（ケシ）の成分がそのまま使われているものもありますが、植物成分の構造からヒントを得た医薬品も多数あげられます。

たとえば、ヤナギの樹皮は、ギリシャ本草では腹痛やリューマチの治療薬であり、中国の神農本草経では下薬で、歯痛の薬でしたが、ヨーロッパでマラリヤの治療薬・キナ皮が入手困難な時、代用としてこれを用いたところ解熱作用が見られました。この薬効成分の解明は1827年、Goodmanによりサリシンとして構造が決まり、1899年にDreserにより、この化合物からアセチルサルチル酸が合成され、現在でもアスピリンの名前で広く用いられています。

下薬の植物のモモと生薬の桃仁

コカインを取るコカノキ

しかし、天然物は構造が複雑なために、合成よりは天然物に頼っているものがまだまだあります。下剤に用いるセンノシドはセンナの葉の成分で、アントラキノンが２個結合した構造をしています。合成されていないニチニチソウの成分ビンクリスチンは小児がんの治療薬として知られています。ケシからのモルヒネやコデインはこの構造からヒントから作られ合成モルヒネ類が末期がんの疼痛薬として広く用いられています。センノシド（センナの成分）は老人の慢性便秘薬としての需要があります。マオウのエフェドリン、トコンのエメチン、ホミカのストロファンチン、ヤボランジーのピロカルピン等があります。また一部は麻薬として乱用されているヘロイン、コカインなどもあります。

Ⅱ　薬用植物の利用拡大による副作用

（1）マオウの問題

マオウは漢方処方に配合される植物ですが、1995年頃からアメリカでは肥

満防止を期待してダイエッタリーサップルメントとして利用されました。マオウの成分であるエフェドリン類の取りすぎで、呼吸困難や覚醒作用により死亡例が頻発しました。2002年、大リーグ、オリオールズのスティーブ・ベクラー投手（23）が春季キャンプ中に熱射病で死亡した問題で、症状を引き起こした疑いのあるエフェドラが使用禁止となりました。

（2）アリストロキア酸による腎臓障害

1992年、ベルギーで中药製剤を利用していた人が腎臓障害を起こしたとの報告が医学雑誌のランセットに記載されました。原因は中国産のウマノスズクサ属の植物の蔓に含まれるアリストロキア酸で有ると判明されました。1997年日本でも関西地方で起きた腎臓障害は同様の植物に起因することが明らかにされ、欧米等は生薬の輸入に対して、アリストロキア酸の含有の恐れのある生薬には、含有しないデータが義務付けられました。日本では薬局方の一般情報に分析法を記載して、これに対応しました。

（3）カワKava（別名：kava-kava, kawa, kawa-kawa）製品による肝臓障害

コショウ科のカワ*Piper methysticum*はポリネシアの民間薬で、現地では、年に一度の祭礼の時に服用するもので、利用は限られた範囲内でした。アメリカやヨーロッパではカワが自然食品コーナーや薬局で精神的不安な人に販売されてきました。

佐竹らはカワのアメリカ市場品を収集し、カワの成分カワイン（図1）類のカワラクトンを分析しました。その結果、成分の含有用量のバラツキが大きく（グラフ1）、乱用すれば健康障害の可能性が推測されました。これを受けて、厚生労働省は2001年3月の通知で、医薬品に区分しました。

2000年にスイスで、カワKava製品と因果関係ありと認められる可能性が高い

カワ *Piper methysticum*

重篤な肝臓障害4例が報告されました。2002年にはカワ含有製品の販売を禁止しました。

2001年11月ドイツの薬剤・医薬品連邦研究所は、同製品による24例の肝臓障害を発表、許可を取り消す意向を表明しました。診断は、肝機能不全、肝炎、肝硬変で、死亡1例、肝臓移植3例が含まれます。2002年ドイツ保健省はカワ製品を処方薬としました。

オランダ保健省は、2001年、カワラクトンの薬理作用を考慮すると濃縮法による製法は医薬品に相当するので、ラベルへの警告文の記載を義務付けました。

（4）セイヨウオトギリソウの医薬品との併用による健康障害

セイヨウオトギリソウ*Hypericum perforatum* L.（写真）は抗鬱を目的に利用されています。成分はヒペリシンやプソイドヒペラシンが含有され、これらは

図1．成分カワラクトンの一つカワイン

グラフ1．カワの6種のラクトンと含有量

セイヨウオトギリソウ*Hypericum perforatum* L.

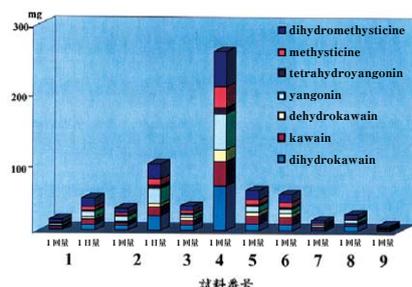
ヒペリシンの構造式

光によって励起し易い構造をしています。

欧米では化学薬品を服用している患者が不安からセイヨウオトギリソウを服用することが多くあります。しかし、薬効の低下を招き、その薬物は気管支拡張薬、血液凝固防止薬、免疫抑制剤、強心薬、抗てんかん薬、抗不整脈薬、経口避妊薬、抗HIV 薬等でした。日本でも医薬品安全情報として、セイヨウオトギリソウの服用に関して医療機関に通達されました。

（5）コンフリーの健康障害

コンフリー*Symphytum offcinale*はムラサキ科の草本植物で、かつて国内で山菜のように食べられたことがあります。最近、海外でシンフィツム（いわゆるコンフリー）を継続的に服用する製品が市販され、これが原因と考えられるヒトの肝静脈閉塞性疾患等の健康被害例が多数報告されています。特に幼児については、より感受性が高いとの報告がありました。この原因はコンフリー等に含まれるピロリジジンアルカロイドでありました。

日本においてコンフリーを使用した健康食品等がインターネットを使って販売されていることが確認されており、食品安全委員会は、日本においてコンフリーが家庭菜園等で栽培されていると情報も

志賀高原のコンフリー *Symphytum offcinale*

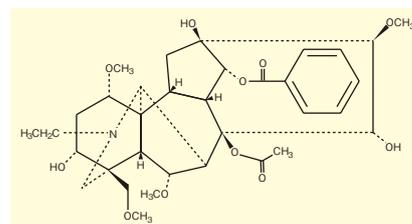
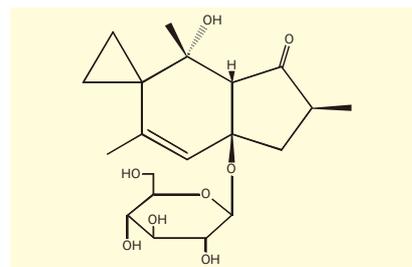
あり、栽培又は野生化しているコンフリーを摂食することによる健康被害が生じる可能性も否定できないことから、広く国民一般に対し、コンフリーを摂食することのリスクについて注意喚起しました。

おわりに

薬用植物は有効成分が緩和な作用を持つものと強い作用を持つものがあります。緩和な作用のある植物は多くのハーブと言われるものであり、強い作用をもつものには、有毒植物と呼ばれることもある植物に多い。トリカブトは有毒植物と知られていますが、有毒成分のアコニチンを加水分解による弱毒化して、加工ブシと称して漢方処方に配合されています。有毒植物を無毒化しているのがワラビです。ワラビには発ガン物質プタキロサイドが含有されていますが、あく抜きをすることで、プテロシンの骨格に付いている糖が切れて、続いて3員環が開裂して無毒化されます。日本人の持っている伝統的知識がいかに大切かを証明した例です。

近年各国は薬用植物に対する規格の充実を行っており、薬用植物資源がこれから更に医療の中で重要な役割を示すようになると思われます。

漢方薬もその作用メカニズムが少しずつ解明されてきています。また、化学薬品では治療困難な疾病に漢方薬を使う医師も増えてきています。医学教育の中で「和漢薬の知識を持つこと」がコアの教育になったので、5年後には漢方薬は日本の医学の中で存在感が出てくると思われます。

オクトリカブト *Aconitum japonicum*

二つのエステル結合を持ったアコニチンの構造式

ワラビの発ガン物質プタキロサイド

生薬試験用標準品

このたびプラエルプトリンA、ノダケニン生薬標準品をラインアップしました。本品は有効成分を分離精製した標準品で、HPLC法での純度は98%以上です。プラエルプトリンA、ノダケニンはゼンコ（Peucedani Radix）の有効成分です。白花ゼンコ、紫花ゼンコは、中国全土、日本国内に生息するセリ科の植物で、根を乾燥させたものは、昔より解熱、去痰、鎮咳薬として漢方薬に配合され、使用されてきました。

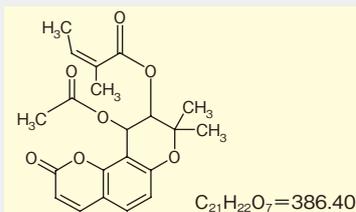
プラエルプトリンA

本品は「白花ゼンコ」の確認試験用標準品です。Chen, Z. X. らにより1979年に報告されました[1]。

起　源：*Peucedanum praeruptorum* Dunn.

CAS No.：73069-25-7

〔参考文献〕

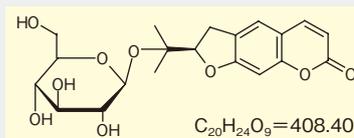
1）Chem, Z. X., Huang, B. S. and Zeng, Q. F. : *Acta Pharm. Sin.*, **14**, 486(1979).

ノダケニン

本品は「紫花ゼンコ」の確認試験用標準品です。最初に有馬純三により単離されました[2]。

起　源：*Angelica decursiva* Franch. et Savat.

CAS No.：495-31-8

〔参考文献〕

2）有馬純三：薬誌，**48**，88（1927）.

コードNo.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格(円)
168-22231	Praeruptorin A Standard	生薬試験用	10mg	35,000
148-08331	Nodakenin Standard	生薬試験用	5mg	35,000

ポジティブリスト関連品目の LC/MS/MS 分析

和光純薬工業株式会社　試薬研究所　吉田貴三子

平成18年５月29日から「食品衛生法等の一部を改正する法律」（平成15年５月30日公布）、いわゆるポジティブリスト制がスタートしました。厚生労働省が通知した農薬や動物用医薬品の一斉分析法（通知法）において、HPLC法による農薬の一斉分析条件は、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ」（対象農薬42種類）、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅱ」（対象農薬25種類）が定められています。通知法にはHPLC条件及びMS/MS検出イオン、検出限界などの情報は公開されていますが、MS/MS検出条件などは各施設の装置で個別に設定する必要があります。また、HPLCカラムにおいてもピーク形状がシャープであるほど各成分の重なりが少なく実試料分析におけるマトリクスの影響を抑える効果が期待できます。このため、HPLCカラムの性能とMS/MS検出条件の最適化は、定量精度や再現性に重要な要素と考えられます。

そこで、私たちは、通知法Ⅰ対象農薬の中の30種類、通知法Ⅱ対象農薬の中の21種類をそれぞれ混合した農薬混合液PL-7、PL-8（p.22「農薬混合液」参照：各単品農薬20ppm）を稀釈して試料とし、カラムの選定を目的に通知法通りのHPLC条件（UV検出）で分離状況を比較しました。その結果、ピーク形状と分離の状況からWakopak® Wakosil-Ⅱ 3C 18 HG、2.0×150mmカラムが最適と判断しました。次に、MS/MS検出器のメソッドについて、各農薬標準液の直接注入による各農薬のMS/MS検出条件の最適化と溶離液を使用したイオン化条件を検討しました。その検討結果に基づいて、農薬混合液PL-7、PL-8をメタノールで0.1ppmに稀釈して分析しました。その時のクロマトグラムを図１～３に、検出イオンと各農薬の相対保持時間を表１、２にまとめて示しました。

さらに、カラムサイズを2.0×100mmまで短くした時のクロマトグラムを図4に示しましたが、分離を損なうことなく短時間分析が可能となり、スクリーニング分析として効果があるものと考えています。

[HPLC Conditions]
Column : Wakopak® Wakosil-II 3C18 HG
Eluent : A) 5mmol/ℓ CH_3COONH_4 in H_2O
B) 5mmol/ℓ CH_3COONH_4 in CH_3OH
Time program :

Column size		
2.0×150mm	2.0×100mm	B conc.
0-1 min.	0-0.6 min.	15-40%
1-3.5 min.	0.6-2.1 min.	40%
3.5-6 min.	2.1-3.6 min.	40-50%
6 -8 min.	3.6-4.2 min.	50-55%
8 -17.5 min.	4.2-10.5 min.	55-95%
17.5-30 min.	10.5-18 min.	95%
30-40 min.	18-28 min.	15%

Flow rate : 0.2mℓ/min. at 40℃
Injection vol. : 0.1ppm、3μℓ

[MS/MS Conditions]
ESI, MRM
IonSpray Voltage : 5,500V(pos), －4,500V(neg)
Temperature : 400℃
Curtein Gas : 20
CollisonGas : 3
Ion Source Gas 1 : 50
Ion Source Gas 2 : 80
System : 3200Q TRAP（ABI）

Fig. 1. PL-7-1 pos（30 sample）
Column size : 2.0 × 150mm

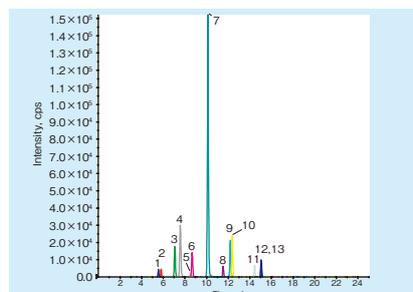



Fig. 2. PL-8-1 neg（13 sample）

Fig. 3. PL-8-1 pos（8 sample）

Fig. 4. PL-7-1 pos（30 sample）
Column size : 2.0 × 100mm

Table 1. PL-7-1（30 sample）

Ⅰ-30sample (PL-7-1) Peak No.	Analyte Peak Name	Analyte Mass Ranges (amu)			Analyte Retention Time (min)	Analyte Retention Time (min)
		Parent	Daughter	Mode	2×150mm	2×100mm
1	Thiamethoxam	292.0	211.2	+	5.4	4.0
2	Clothianidin	250.0	132.1	+	6.4	4.7
3	Chloridazon (PAC)	222.1	77.2	+	7.4	5.3
4	Thiacloprid	253.0	126.0	+	8.3	5.9
5	Thiabendazole	202.1	175.1	+	10.3	7.0
6	Azamethiphos	325.0	183.1	+	11.0	7.4
7	Dimethirimol	210.2	71.1	+	13.7	8.8
8	Isoxaflutole	360.1	251.1	+	14.2	9.0
9	Azinphos-methyl	318.0	132.2	+	14.9	9.5
10	Pyriftalid	319.1	139.1	+	15.2	9.6
11	(*E*)-Ferimzone	255.2	91.2	+	16.0	10.1
12	(*Z*)-Ferimzone	255.2	91.2	+	16.0	10.1
13	Methoxyphenozide	369.2	149.2	+	16.3	10.2
14	Iprovalicarb	321.2	119.1	+	16.8	10.6
15	Chromafenozide	395.2	175.1	+	16.8	10.5
16	Butafenacil	475.1	331.1	+	16.8	10.5
17	Simeconazole	294.1	70.1	+	17.0	10.7
18	Oryzalin	347.1	288.2	+	17.1	10.7
19	Cyazofamid	325.1	108.2	+	17.2	10.8
20	Naproanilide	292.1	171.3	+	17.5	11.0
21	Fenoxycarb	302.2	88.1	+	17.6	11.0
22	Anilofos	368.1	199.1	+	18.0	11.3
23	Cyflufenamid	413.0	295.2	+	18.4	11.6
24	Pyrazolynate (Pyrazolate)	439.0	91.1	+	18.7	11.7
25	Indoxacarb (Indoxacarb-MP)	528.1	203.2	+	18.8	11.8
26	Benzofenap	431.0	105.2	+	19.4	12.2
27	Furathiocarb	383.2	195.3	+	19.6	12.4
28	Cloquintocet-mexyl	336.2	238.2	+	19.9	12.6
29	Milbemectin A 3	551.3	337.4	+	21.5	13.7
30	Abamectin B 1 a	890.6	305.3	+	21.5	13.7

Table 2. PL-8-1（21 sample）

Ⅱ-21sample (PL-8-1) Peak No.	Analyte Peak Name	Analyte Mass Ranges (amu)			Analyte Retention Time (min)	Analyte Retention Time (min)
		Parent	Daughter	Mode	2×150mm	2×100mm
1	Flumetsulam	326.1	129.1	+	5.1	3.9
2	Thifensulfuron-methyl	388.0	167.2	+	5.8	4.4
3	Florasuram	360.0	129.3	+	6.5	4.9
4	Cloransulam-methyl	430.0	398.1	+	11.1	7.4
5	Diclosulam	406.0	161.1	+	11.6	7.7
6	Thidiazuron	221.0	102.1	+	11.6	7.7
7	Forchlorfenuron	248.1	129.2	+	14.4	9.1
8	Haloxyfop	362.1	316.2	+	15.6	9.8
1	Gibberellin (Gibberellin A 3)	345.0	142.9	−	5.6	4.2
2	Fluroxypyr	252.9	194.7	−	5.8	4.3
3	4-Chlorophenoxyacetic Acid (4-CPA)	184.9	126.9	−	7.1	5.1
4	Bromoxynil	275.7	80.8	−	7.6	5.4
5	1-Naphthaleneacetic Acid	184.9	141.0	−	8.5	6.0
6	Cloprop	198.9	126.7	−	8.7	6.1
7	Ioxynil	369.7	126.8	−	10.1	6.9
8	Triclopyr	255.8	197.9	−	11.5	7.6
9	Mecoprop (MCPP)	213.0	140.7	−	12.2	7.9
10	Dichlorprop	232.9	160.9	−	12.4	8.0
11	MCPB	227.0	140.9	−	14.4	9.1
12	Acifluorfen	359.9	316.1	−	15.0	9.4
13	Fomesafen	437.0	195.0	−	15.0	9.4

〔参考文献〕

1) 「食品衛生法等の一部を改正する法律」（平成15年5月30日公布）.
2) 「食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験方法について（一部改正）」（平成17年11月29日公布）.

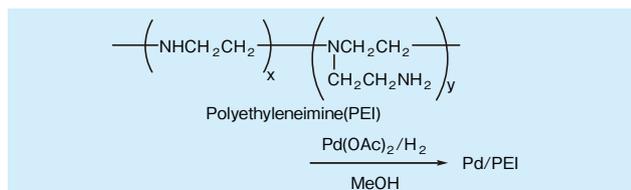
官能基選択的接触還元触媒 Wako

パラジウム-ポリエチレンイミン【Pd/PEI】

Pd/PEIはポリエチレンイミンポリマーにPdが担持された触媒です。

$$-(NHCH_2CH_2)_x-(NCH_2CH_2(CH_2CH_2NH_2))_y-$$

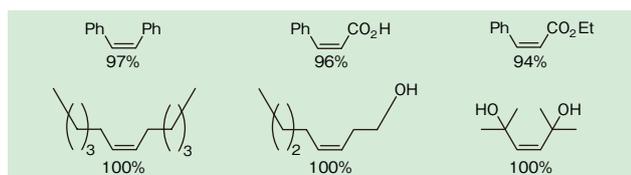
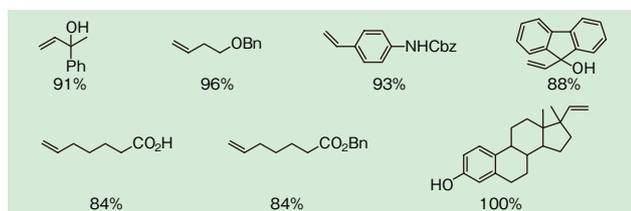
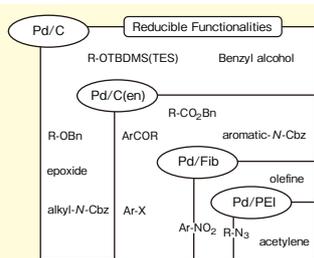
Polyethyleneimine(PEI)

$$\xrightarrow[\text{MeOH}]{Pd(OAc)_2/H_2} \text{Pd/PEI}$$

アルキンからアルケンへの選択的部分水素化は合成化学、及び触媒の選択性発現の観点から興味が持たれています。一般にアルキンからアルケンへの選択的部分水素化は極めて困難で、鉛を触媒毒として用いたLindlar触媒が知られていますが、鉛の毒性により環境負荷が高く、また一置換アルキンには適応できないといった欠点があります[1]。本品は、窒素性塩基を多く含むポリエチレンイミンポリマーを、パラジウムの強い触媒毒かつ担体として利用することで、これらの問題を解決しました[2]。ご好評を頂いております、Pd/C(en)[3], Pd/Fib[4] と使い分けることにより種々の還元性官能基変換が可能です。

特　長

- アルキンからアルケンへの選択的部分水素化
- 末端アルキンの部分水素化

反 応 例

■Partial Hydrogenation of di-substituted Alkynes

■Partial Hydrogenation of mono-substituted Alkynes

触媒活性の比較

〔参考文献〕

1）Rylander, P. N. : "*Hydrogenation Methods*", Academic Press, New York (1985).

2）231st ACS National Meeting, Atlanta, GA, United States, March 26-30, 2006, ORGN-568 (2006).

3）Sajiki, H., Hattori, K. and Hirota, K. : *J. Org. Chem.*, **63**, 7990 (1998).

4）Sajiki, H., Ikawa, T. and Hirota, K. : *Tetrahedron Lett.*, **44**, 8437 (2003).

コード No.	品　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
161-22221	Palladium-Polyethyleneimine【Pd/PEI】	有機合成用	1g	8,000
167-22223			5g	26,000

関連商品

コード No.	品　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
163-21441	Palladium-Activated Carbon Ethylenediamine Complex (Pd3.5～6.5%)【Pd/C(en)】	有機合成用	1g	4,000
169-21443			5g	13,500
161-21442			25g	40,000
167-22181	Palladium-Fibroin【Pd/Fib】	有機合成用	1g	4,500
163-22183			5g	14,000

新規メタセシス触媒 Wako

ジクロロ(3-フェニル-1*H*-インデン-1-イリデン)ビス(トリシクロヘキシルホスフィン)ルテニウム(Ⅳ)

メタセシス触媒はオレフィンのみに反応し、オレフィン結合の組替えによってC-C結合を形成する効率的で有用な触媒です。応用範囲の広い有機合成法として医薬品、ポリマー応用、新素材の工業的製法に多いに期待されています。

本触媒は空気中で安定であり、RCM（閉環メタセシス）反応において高い活性を示します[1]。

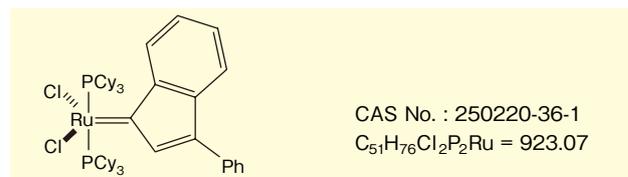
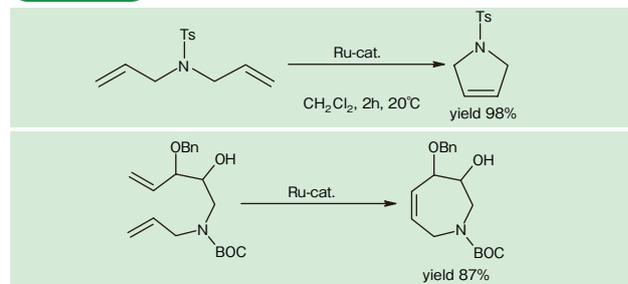
RCM反応は非常に複雑な構造を持つ天然物の全合成において、鍵反応としてその威力を発揮します[2]。

CAS No. : 250220-36-1

$C_{51}H_{76}Cl_2P_2Ru$ = 923.07

反 応 例

Ts-N(allyl)₂ →(Ru-cat., CH_2Cl_2, 2h, 20℃) N-Ts ピロリン　yield 98%

OBn, OH, N-BOC ジエン →(Ru-cat.) 環化体　yield 87%

〔参考文献〕

1）Fürstner, A. *et al.* : *Chem. Eur. J.*, **4811**, 7 (2001).

2）Fürstner, A. *et al.* : *Chem. Eur. J.*, **320**, 9 (2003).

コード No.	品　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
041-29971	Dichloro(3-phenyl-1*H*-inden-1-ylidene)bis-(tricyclohexylphosphine)ruthenium (Ⅳ)	有機合成用	1g	10,000
047-29973			5g	40,000

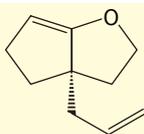
＊Cooperated with Umicore

新規光学分割剤 Wako

(*S*)-5-アリル-2-オキサビシクロ[3.3.0]オクト-1(8)-エン

本品は新規なアルコール用光学分割剤です。これまでに難しかったアルコールやチオールの分割に幅広く適用できます。

特　長

- 適度な沸点のため、蒸留で回収・精製が可能
- 化学的に安定な骨格の炭化水素構造
- 不斉点が4級炭素のためラセミ化の心配がない

$C_{10}H_{14}O$ = 150.22

分 割 例

アルコール	⊿Rf
OH	0.064
OH	0.074
SH	0.083
OH, N_3	0.139
OH, Cl	0.061

コードNo.	品　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
011-20671	(*S*)-5-Allyl-2-oxabicyclo[3.3.0]oct-1(8)-ene	光学分割用	1g	8,000
017-20673			5g	25,000

磁性粒子を標識に用いたPCB簡易磁気アッセイ法 SEKISUI

マグピア™ PCB測定システム

概　要

- イムノクロマト法と磁気アッセイ法による絶縁油のPCB汚染濃度を簡便・迅速に定量できる簡易測定システムです
- PCB汚染濃度のスクリーニング検査に適しています
- 検出には磁気測定を利用し、高感度を実現しています

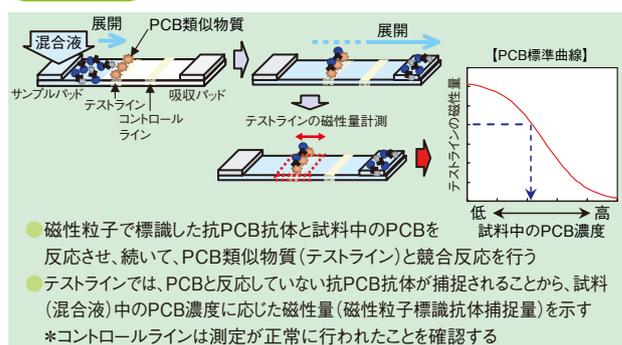
キット構成

- イムノクロマトデバイス（①）　10個
- 磁性粒子標識抗体（②）　10本
- 溶解液（③）　1本

特　長

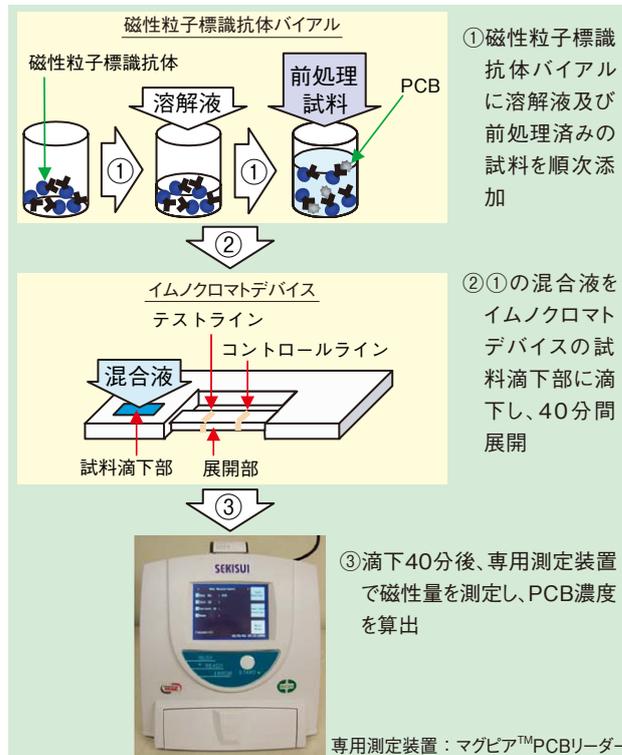
- 簡便：簡単な操作で定量測定が可能
- 迅速：前処理から測定まで約2時間
  （前処理 約70分、測定時間 約45分）
- 高感度：測定下限 0.2mg/kg（絶縁油）

測定原理

- 磁性粒子で標識した抗PCB抗体と試料中のPCBを反応させ、続いて、PCB類似物質（テストライン）と競合反応を行う
- テストラインでは、PCBと反応していない抗PCB抗体が捕捉されることから、試料（混合液）中のPCB濃度に応じた磁性量（磁性粒子標識抗体捕捉量）を示す
  ＊コントロールラインは測定が正常に行われたことを確認する

操作手順

試料の前処理

絶縁油試料→DMSO抽出→ヘキサン抽出
→硝酸銀シリカ処理→DMSO転溶（測定試料）
（DMSO：ジメチルスルホキシド）

測　定

コードNo.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格(円)
306-31561	マグピア™PCBラピッドテスト	PCB測定用	1キット（10テスト）	69,000
303-31571	マグピア™PCBリーダー	PCB測定用	1台	2,860,000

※マグピア：商標登録出願中

ポジティブリスト 関連品目 Wako

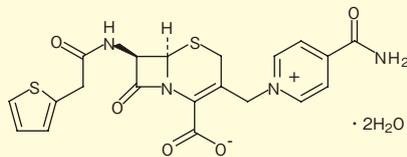
食品衛生法などの一部を改正する法律（平成15年法律第55号）により、食品に残留する農薬、動物用医薬品または飼料添加物に関し、ポジティブリスト制度が導入されました。

高速液体クロマトグラフ用
動物用医薬品標準品

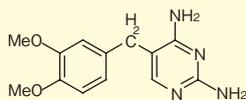
HPLCで分析する際に使用できる動物用医薬品の標準品を商品化しました。これからも順次、品目を増やしていく予定です。

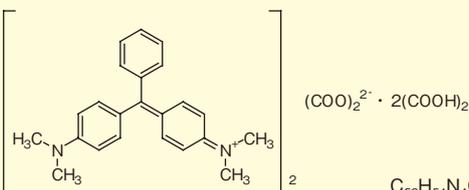
ブロチゾラム標準品

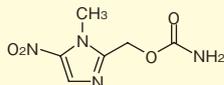
$C_{15}H_{10}BrClN_4S$＝393.69

セファロニウム二水和物標準品

・$2H_2O$

$C_{20}H_{18}N_4O_5S_2$・$2H_2O$＝494.54

ジアベリジン標準品

$C_{13}H_{16}N_4O_2$＝260.29

マラカイトグリーンしゅう酸塩標準品

$C_{52}H_{54}N_4O_{12}$＝927.00

ロニダゾール標準品

$C_6H_8N_4O_4$＝200.15

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
021-15341	Brotizolam Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	15,000
032-19691	Cephalonium Dihydrate Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000
048-29621	Diaveridine Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	9,000
132-15141	Malachite Green Oxalate Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	7,000
180-02011	Ronidazole Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	10,000

ポジティブリスト制度対応
混合液

平成18年5月29日にポジティブリスト制度が施行されました。厚生労働省よりこの制度に対応した一斉試験法が通達されています（食安発第1129002号）。当社では、この一斉試験法に対応した各種混合液を販売しています。

本品の組合せにより、一斉試験法に記載されているほとんどの成分を揃えることができます。

（一部、一斉試験法記載の成分で、混合液に含まれていない成分があります。）

一斉試験法（食安発第1129002号による）	対応商品（略号）
GC/MSによる農薬等の一斉試験法（農産物）	農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-4、農・PL-5、農・PL-6、農・PL-11
LC/MSによる農薬等の一斉試験法 Ⅰ（農産物）	農・PL-7
LC/MSによる農薬等の一斉試験法 Ⅱ（農産物）	農・PL-8
GC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）「筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び魚介類」	農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-9、農・PL-11
GC/MSによる農薬等の一斉試験法（畜水産物）「乳、卵及びはちみつ」	農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-9、農・PL-10、農・PL-11
HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅰ（畜水産物）	動・PL-1、動・PL-2
HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ（畜水産物）	動・PL-2

成分一覧

No.は「食品中に残留する農薬等の暫定基準（最終案）」に記載されているそれぞれの成分の番号です。

農薬混合液 PL-1-1（農・PL-1）　32種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アジンホスメチル	32	スピロキサミン	300	フェンプロピモルフ	524
アトラジン	39	チオベンカルブ	355	フルシトリネート	554
β-エンドスルファン	112	テフルトリン	375	フルバリネート	561
オキサジアゾン	118	テルブトリン	381	プロシミドン	576
オメトエート	132	テルブホス	382	*trans*-ペルメトリン	619
クレソキシムメチル	166	トリフルラリン	403	*cis*-ペルメトリン	619
クロルピリホスメチル	194	ノルフルラゾン	440	ペンコナゾール	620
クロルフェナピル	195	ビフェントリン	473	ペンディメタリン	631
シフルトリン	272	ピレトリン	497	マラチオン	652
ジフルフェニカン	274	フェナミホス	504	メチダチオン	674
ジメトエート	290	フェナリモル	505		

農薬混合液 PL-2-1（農・PL-2）　31種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アラクロール	50	トリアジメノール	387	プロパルギット	586
イソフェンホスオキソン	70	トリアレート	391	プロピコナゾール	587
イソフェンホス	70	ピラクロホス	480	プロピザミド	588
イソプロチオラン	71	ピリプロキシフェン	491	プロポキスル	594
エチオン	92	ビンクロゾリン	499	ヘキサジノン	609
カルボフラン	151	フェニトロチオン	506	ホスメット	640
キントゼン	161	フェンチオン	516	ミクロブタニル	655
クロルフェンビンホス	197	フェンブコナゾール	521	メトキシクロル	678
ジフェノコナゾール	268	ブプロフェジン	535	メトラクロール	685
シプロコナゾール	278	フルキンコナゾール	552		
テトラクロルビンホス	367	フルリドン	572		

農薬混合液 PL-3-1（農・PL-3）　29種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
γ-BHC（リンデン）	現01	シペルメトリン	280	ピリダベン	487
アセタミプリド	35	シマジン	283	ピリミホスメチル	494
アレスリン	57	ダイアジノン	343	フィプロニル	503
エトプロホス	102	テブコナゾール	370	フェンバレレート	519
α-エンドスルファン	112	デルタメトリン	379	フェンプロパトリン	523
オキシフルオルフェン	127	トリアジメホン	388	フルトラニル	558
キノキシフェン	156	トリアゾホス	390	プロパニル	583
クロルピリホス	193	パラチオン	450	プロフェノホス	589
クロロベンジレート	207	パラチオンメチル	451	ブロモプロピレート	602
シハロトリン	263	ビテルタノール	467		

農薬混合液 PL-4-1（農・PL-4）　37 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
β-BHC	現01	イマザメタベンズメチルエステル	80	ピリダフェンチオン	486
δ-BHC	現01	イミベンコナゾール	87	ピロキロン	498
ジエトフェンカルブ	現20	ウニコナゾール P	89	フェントエート	518
トルクロホスメチル	現35	エタルフルラリン	91	フサライド	528
ピリミノバックメチル(*Z*)	現45	エトキサゾール	96	ブピリメート	534
ピリミノバックメチル(*E*)	現45	クロルタールジメチル	191	フルアクリピリム	545
ブタクロール	現50	ジクロラン	244	ホスチアゼート	637
プレチラクロール	現53	ジメテナミド	289	ホスファミドン	638
メフェナセット	現58	ジメピペレート	292	メビンホス	689
レナシル	現62	テクナゼン	363	メフェンピルジエチル	690
アザコナゾール	24	テトラジホン	369	モノクロトホス	696
アニロホス	41	トラロメトリン	379		
アメトリン	48	ハルフェンプロックス	454		

農薬混合液 PL-5-1（農・PL-5）　37 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
EPN	現03	メプロニル	現59	トリブホス	399
イソプロカルブ	現04	カズサホス	現追加1	ピラフルフェンエチル	484
エスプロカルブ	現08	アクリナトリン	22	ピリメタニル	495
ジクロシメット	現21	アセトクロール	36	フェノチオカルブ	510
ジメチルビンホス(*Z*)	現25	イソキサチオン	66	フルチアセットメチル	557
シメトリン	現26	イプロベンホス	75	フルミクロラックペンチル	568
テニルクロール	現31	イミベンコナゾール脱ベンジル体	87	プロパクロール	581
トリシクラゾール	現34	エトフェンプロックス	100	プロメトリン	598
ビフェノックス	現40	クロルプロファム	200	ブロモホス	603
ピリフェノックス(*E*)	現43	ジメタメトリン	286	ベナラキシル	614
フェンスルホチオン	現48	ゾキサミド	341	ホサロン	635
プロチオホス	現54	ターバシル	342		
ベンフレセート	現57	テトラコナゾール	368		

農薬混合液 PL-6-1（農・PL-6）　37 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
α-BHC	現01	キノクラミン	157	フェノトリン	511
エディフェンホス	現11	シアナジン	221	ブタミホス	530
カフェンストロール	現16	シアノホス	223	フラムプロップメチル	541
シハロホップブチル	現24	ジクロフェンチオン	238	フルミオキサジン	567
チフルザミド	現29	ジクロホップメチル	243	プロパジン	582
トルフェンピラド	現36	ジフェナミド	265	ブロマシル	595
ピリフェノックス(*Z*)	現43	テブフェンピラド	373	ブロモブチド	601
ピリブチカルブ	現44	トリフロキシストロビン	404	ヘキサコナゾール	608
フェノキサニル	現47	ナプロパミド	421	ベノキサコル	615
プロヒドロジャスモン	現55	ニトロタールイソプロピル	432	ベンフルラリン	633
XMC	20	パクロブトラゾール	446	メフェノキサム	672
オキサジキシル	119	ピペロホス	476		
キナルホス	155	ピラゾホス	482		

農薬混合液 PL-7-1（農・PL-7）　30 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アザメチホス	27	クロマフェノジド	183	ピラゾリネート	483
アジンホスメチル	32	クロリダゾン	186	ピリフタリド	490
アニロホス	41	シアゾファミド	220	フェノキシカルブ	508
アベルメクチン B1a	42	シフルフェナミド	273	フェリムゾン(*E*)	513
イソキサフルトール	67	シメコナゾール	285	フェリムゾン(*Z*)	513
イプロバリカルブ	74	ジメチリモール	288	ブタフェナシル	529
インドキサカルブ	88	チアクロプリド	347	フラチオカルブ	539
オリザリン	134	チアベンダゾール	350	ベンゾフェナップ	628
クロキントセットメキシル	170	チアメトキサム	352	ミルベメクチン A3	657
クロチアニジン	176	ナプロアニリド	420	メトキシフェノジド	679

農薬混合液 PL-8-1（農・PL-8）　21 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
1-ナフタレン酢酸	3	ジクロスラム	237	フルメツラム	570
4-クロロフェノキシ酢酸	11	ジクロルプロップ	245	フルロキシピル	573
MCPB	16	ジベレリン	281	ブロモキシニル	599
アイオキシニル	21	チジアズロン	357	フロラスラム	605
アシフルオルフェン	28	チフェンスルフロンメチル	359	ホメサフェン	642
クロプロップ	181	トリクロピル	393	ホルクロルフェニュロン	646
クロランスラムメチル	185	ハロキシホップ	456	メコプロップ	661

農薬混合液 PL-9-1（農・PL-9）　18 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
EPTC	14	クロロネブ	208	フェノキサプロップエチル	507
イプロジオン	73	ジフェニルアミン	267	フェノブカルブ	512
イプロジオン代謝物	73	ビオレスメトリン	462	エスフェンバレレート	519
イマザリル	82	ピペロニルブトキシド	475	フルシラゾール	555
エトリジアゾール	103	ピリミカルブ	492	プロクロラズ	575
エンドスルファンスルフェート	112	ファムフール	501	プロペタンホス	591

農薬混合液 PL-10-1（農・PL-10）　9 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
アセフェート	37	アルドキシカルブ	55	ベンダイオカルブ	629
アゾキシストロビン	38	カルバリル	144	メタラキシル	672
アルジカルブ	54	チアベンダゾール	350	メトリブジン	686

農薬混合液 PL-11-1（農・PL-11）　15 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
p,p'-DDT	13	*trans*-クロルデン	192	アルドリン	361
o,p'-DDT	13	*cis*-クロルデン	192	ヘキサクロロベンゼン	607
p,p'-DDD	13	オキシクロルデン	192	ヘプタクロル	617
p,p'-DDE	13	ジコホール	250	ヘプタクロルエポキシド(isomerA)	617
エンドリン	114	ディルドリン	361	ヘプタクロルエポキシド(isomerB)	617

動物用医薬品混合液 PL-1-1（動・PL-1）　25 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	9	ダノフロキサシン	346	フェノブカルブ	512
アレスリン	57	チアムリン	351	プレドニゾロン	574
エプリノメクチンB1a	104	チルミコシン	360	フロルフェニコール	606
エマメクチン B1a	107	デキサメタゾン	362	モネンシン	695
キシラジン	153	テメホス	378	モランテル	698
クレンブテロール	168	トリクロルホン	394	リファキシミン	704
クロキサシリン	169	ヒドロコルチゾン	470	リンコマイシン	708
クロルスロン	190	ピリメタミン	496		
スルファセタミド	310	ファムフール	501		

動物用医薬品混合液 PL-2-1（動・PL-2）　24 種

成分名	No.	成分名	No.	成分名	No.
5-プロピルスルホニル-1*H*-ベンズイミダゾール-2-アミン	11	スルファジアジン	307	スルファメラジン	321
		スルファジミジン	308	スルファモノメトキシン	323
エトパベート	99	スルファジメトキシン	309	ゼラノール	339
オルメトプリム	137	スルファチアゾール	311	チアベンダゾール	350
α-トレンボロン	213	スルファドキシン	312	チアンフェニコール	353
β-トレンボロン	213	スルファニトラン	314	トリメトプリム	411
酢酸メレンゲステロール	214	スルファピリジン	316	レバミゾール	712
スルファキノキサリン	304	スルファメトキサゾール	319		
スルファクロルピリダジン	306	スルファメトキシピリダジン	320		

コード No.	品　名	容　量	希望納入価格(円)
165-22263 169-22261	農薬混合液 PL-1-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	20,000 40,000
162-22273 166-22271	農薬混合液 PL-2-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	20,000 40,000
169-22283 163-22281	農薬混合液 PL-3-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)※1	1mℓ 1mℓ×5A	20,000 40,000
166-22293 160-22291	農薬混合液 PL-4-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)※1	1mℓ 1mℓ×5A	22,000 45,000
169-22303 163-22301	農薬混合液 PL-5-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	22,000 45,000
166-22313 160-22311	農薬混合液 PL-6-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	22,000 45,000
163-22323 167-22321	農薬混合液 PL-7-1 (各 20 μg/mℓ アセトニトリル溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	15,000 45,000
160-22333 164-22331	農薬混合液 PL-8-1 (各 20 μg/mℓ アセトニトリル溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	12,000 35,000
167-22343 161-22341	農薬混合液 PL-9-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	15,000 30,000
164-22353 168-22351	農薬混合液 PL-10-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	10,000 20,000
558-90541	農薬混合液 PL-11-1 (各 20 μg/mℓ アセトン溶液)※2	1mℓ×5A	50,000
227-01593 221-01591	動物用医薬品混合液 PL-1-1 (各 20 μg/mℓメタノール溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	20,000 40,000
220-01603 224-01601	動物用医薬品混合液 PL-2-1 (各 20 μg/mℓメタノール溶液)	1mℓ 1mℓ×5A	20,000 40,000

※1　農薬混合液 PL-3-1 及び農薬混合液 PL-4-1 は特定毒物のためご購入の際は、「特定毒物研究者許可証」 が必要となります。

※2　農薬混合液 PL-11-1 は第 1 種特定化学物質のため、ご購入の際は、「確約書」 が必要となります。

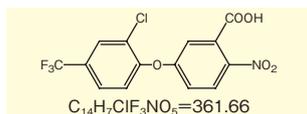
残留農薬試験用

Wako

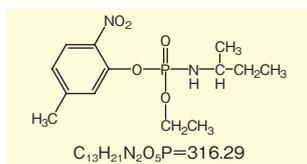
農薬標準品

■アシフルオルフェン標準品

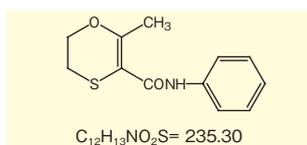
CAS No.：50594-66-6
化学名：5-(2-Chloro-α,α,α-trifluoro-*p*-tolyloxy)-2-nitrobenzoic Acid
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：わずかにうすい黄褐色粉末
溶解性：水 120(mg/ℓ, 23-25℃)．アセトン 600、エタノール 500、ジクロロメタン 50、キシレン、ケロセン <10(g/kg, 25℃)．

$C_{14}H_7ClF_3NO_5$=361.66

■ブタミホスオキソン標準品

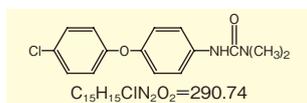
CAS No.：56362-05-1
化学名：*O*-Ethyl *O*-6-Nitro-*m*-tolyl *sec*-Butylphosphoramidate
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：わずかにうすい黄色結晶性粉末

$C_{13}H_{21}N_2O_5P$=316.29

■カルボキシン標準品

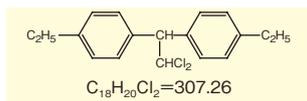
CAS No.：5234-68-4
化学名：5,6-Dihydro-2-methyl-1,4-oxathiine-3-carboxanilide
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：白色粉末
溶解性：水 199、アセトン 177、ジクロロメタン 353、メタノール 88、酢酸エチル 93(mg/ℓ, 25℃)．

$C_{12}H_{13}NO_2S$= 235.30

■クロロクスロン標準品

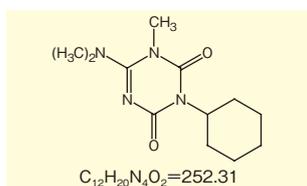
CAS No.：1982-47-4
化学名：3-[4-(4-Chlorophenoxy)phenyl]-1,1-dimethylurea
含　量：98.0% 以上(HPLC)
外　観：白色、結晶性粉末～塊

$C_{15}H_{15}ClN_2O_2$=290.74

■ 1,1-ジクロロ-2,2-ビス(4-エチルフェニル)エタン標準品

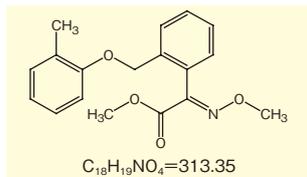
CAS No.：72-56-0
化学名：1,1-Dichloro-2,2-bis(4-ethylphenyl)ethane
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：白色、結晶～結晶性粉末、及び塊

$C_{18}H_{20}Cl_2$=307.26

■ヘキサジノン標準品

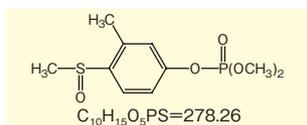
CAS No.：51235-04-2
化学名：3-Cyclohexyl-6-(dimethylamino)-1-methyl-1,3,5-triazine-2,4-(1*H*,3*H*)-dione
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：白色結晶性粉末～粉末
溶解性：水 33、クロロホルム 3880、メタノール 2650、ベンゼン 940、ジメチルホルムアミド 836、アセトン 792、トルエン 386、ヘキサン 3(g/kg, 25℃)．

$C_{12}H_{20}N_4O_2$=252.31

■クレソキシムメチル標準品

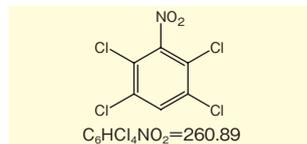
CAS No.：143390-89-0
化学名：Methyl(*E*)-2-Methoxyimino-2-[2-(*o*-tolyloxymethyl)phenyl]acetate
含　量：99.0% 以上(cGC)
外　観：白色～うすい褐色、結晶性粉末～粉末

$C_{18}H_{19}NO_4$=313.35

■ MPP オキソンスルホキシド標準品

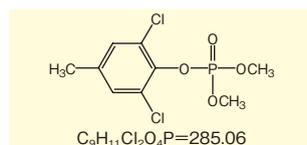
CAS No.：6552-13-2
化学名：*O,O*-Dimethyl *O*-3-Methyl-4-methylsulfinylphenyl Phosphate
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：白色結晶性粉末～粉末

$C_{10}H_{15}O_5PS$=278.26

■テクナゼン標準品

CAS No.：117-18-0
化学名：1,2,4,5-Tetrachloro-3-nitrobenzene
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：白色結晶～結晶性粉末
溶解性：水 0.44(mg/ℓ, 20℃)．エタノール 40(g/ℓ, 25℃)．

$C_6HCl_4NO_2$=260.89

■トルクロホスメチルオキソン標準品

CAS No.：97483-08-4
化学名：*O*-2,6-Dichloro-*p*-tolyl *O,O*-Dimethyl Phosphate
含　量：98.0% 以上(cGC)
外　観：白色粉末

$C_9H_{11}Cl_2O_4P$=285.06

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
010-20521	Acifluorfen Standard	残留農薬試験用	200mg	12,000
024-15571	Butamifos Oxon Standard	残留農薬試験用	100mg	30,000
034-19771	Carboxin Standard	残留農薬試験用	200mg	9,500
030-19751	Chloroxuron Standard	残留農薬試験用	200mg	10,000
044-29601	1,1-Dichloro-2,2-bis (4-ethylphenyl)ethane Standard	残留農薬試験用	200mg	11,000
081-08311	Hexazinone Standard	残留農薬試験用	200mg	12,000
118-00533	Kresoxim-methyl Standard	残留農薬試験用	100mg	18,000
136-15161	MPP Oxon Sulfoxide Standard	残留農薬試験用	100mg	25,000
209-16441	Tecnazene Standard	残留農薬試験用	200mg	8,500
202-16551	Tolclofos-methyl Oxon Standard	残留農薬試験用	100mg	30,000

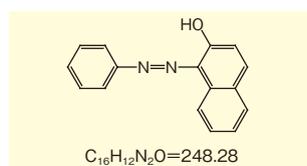
高速液体クロマトグラフ用

ズダン・パラレッド標準品

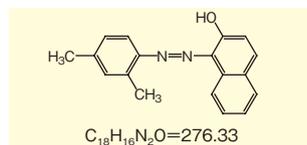
ズダンⅠ～Ⅳ、パラレッドは日本、欧米において食品への添加が認められていない油溶性の合成色素（アゾ色素）です。本品はHPLCで分析する際に使用できる標準品です。

■ズダンⅠ標準品

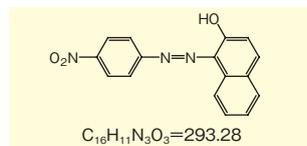
CAS No.：842-07-9
化学名：1-Phenylazo-2-naphthol
含　量：98.0% 以上(HPLC)
外　観：黄みの赤色、粉末または塊
溶解性：水に不溶。エタノール、アセトン、ベンゼンに可溶。

$C_{16}H_{12}N_2O$=248.28

■ズダンⅡ標準品

CAS No.：3118-97-6
化学名：1-(2,4-Dimethylphenylazo)-2-naphthol
含　量：98.0% 以上(HPLC)
外　観：暗赤褐色、粉末または塊
溶解性：水に不溶。エタノール、アセトン、クロロホルムに可溶。

$C_{18}H_{16}N_2O$=276.33

■パラレッド標準品

CAS No.：6410-10-2
化学名：1-(4-Nitrophenylazo)-2-naphthol
含　量：98.0% 以上(HPLC)
外　観：黄色～黄みの赤褐色、結晶性粉末～粉末

$C_{16}H_{11}N_3O_3$=293.28

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
193-14131	Sudan Ⅰ Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
190-14141	Sudan Ⅱ Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	8,000
160-22171	Para Red Standard	高速液体クロマトグラフ用	200mg	9,000

RoHS 対応用試薬

Wako

平成18年7月より、欧州連合（EU）において、「RoHS指令」が施行されました。「RoHS指令」とは、あらゆる電子機器を対象に、特定有害物質の使用を制限するものです。制限対象となる特定有害物質は、鉛（Pb）、水銀（Hg）、カドミウム（Cd）、六価クロム（Cr^{6+}）、ポリブロモビフェニル（PBB）、ポリブロモジフェニルエーテル（PBDE）の６物質です。

このたび当社では、特級試薬57品目、容量分析用試薬４品目に、それぞれRoHS指令の規制対象である６物質の規格項目を追加した、「RoHS対応用試薬」61品目を発売しましたので、ご活用下さい。

特　長

- 特級・容量分析用の規格に、RoHS指令の規制対象となる６物質を追加

規 格 例

カドミウム（Cd）…………………………… 10 ppm以下
水銀（Hg）………………………………… 10 ppm以下
鉛（Pb）…………………………………… 100 ppm以下
クロム（Cr）……………………………… 10 ppm以下
臭素系難燃剤……………………………… 1 ppm以下

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
016-20805 012-20807	Acetic Acid	RoHS対応用	500mℓ 20kg	1,020 照会
013-20795 019-20797	Acetone	RoHS対応用	500mℓ 14kg	900 照会
013-20815	28% Ammonia Solution	RoHS対応用	500mℓ	850
010-20825 016-20827	25% Ammonia Solution	RoHS対応用	500mℓ 18ℓ	850 照会
014-20845	Ammonium Acetate	RoHS対応用	500g	1,650
017-20835 013-20837	Ammonium Sulfate	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
021-15645 027-15647	Boric Acid	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
020-15615 026-15617	1-Butanol	RoHS対応用	500mℓ 14kg	1,130 照会
024-15635 020-15637	2-Butanone	RoHS対応用	500mℓ 14kg	1,050 照会
027-15625 023-15627	2-(2-Butoxyethoxy)ethanol	RoHS対応用	500mℓ 15kg	1,900 照会
038-20085 034-20087	Chloroform	RoHS対応用	500mℓ 25kg	1,350 照会
031-20075 037-20077	Citric Acid Monohydrate	RoHS対応用	500g 20kg	1,750 照会
034-20065 030-20067	Copper (II) Sulfate Pentahydrate	RoHS対応用	500g 15kg	近日発売 近日発売
045-29935	Diammonium Hydrogen Citrate	RoHS対応用	500g	近日発売
048-29925 044-29927	Dichloromethane	RoHS対応用	500mℓ 20kg	1,250 照会
041-29915 047-29917	*N, N*-Dimethylformamide	RoHS対応用	500mℓ 15kg	近日発売 近日発売
042-29945 048-29947	Dimethyl Sulfoxide	RoHS対応用	500mℓ 18kg	近日発売 近日発売
046-29965	Disodium Hydrogenphosphate	RoHS対応用	500g	1,900
055-07515 051-07517	Ethanol (99.5)	RoHS対応用	500mℓ 18ℓ	2,000 照会
052-07525 058-07527	Ethanol (95)	RoHS対応用	500mℓ 18ℓ	2,000 照会

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
058-07505 054-07507	Ethyl Acetate	RoHS対応用	500mℓ 15kg	1,170 照会
059-07535 055-07537	Ethylene Glycol	RoHS対応用	500mℓ 18kg	1,400 照会
064-04845 060-04847	Formaldehyde Solution	RoHS対応用	500mℓ 18kg	900 照会
073-05215 079-05217	Glycerol	RoHS対応用	500mℓ 20kg	1,700 照会
070-05225 076-05227	Glycine	RoHS対応用	500g 10kg	近日発売 近日発売
082-08405 088-08407	Hexane	RoHS対応用	500mℓ 12kg	980 照会
089-08415 085-08417	Hydrochloric Acid	RoHS対応用	500mℓ 23kg	近日発売 近日発売
086-08425	1mol/ℓ Hydrochloric Acid	RoHS対応用	500mℓ	近日発売
083-08435	0.1mol/ℓ Hydrochloric Acid	RoHS対応用	500mℓ	近日発売
080-08445 086-08447	Hydrogen Peroxide	RoHS対応用	500mℓ 20kg	920 照会
099-05415 095-05417	Iron (II) Sulfate Heptahydrate	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
133-15235 139-15237	Methanol	RoHS対応用	500mℓ 14kg	770 照会
141-08365	Nickel (II) Chloride Hexahydrate	RoHS対応用	500g	近日発売
148-08375	Nickel (II) Sulfate Hexahydrate	RoHS対応用	500g	近日発売
144-08355 140-08357	Nitric Acid (1.38)	RoHS対応用	500mℓ 25kg	近日発売 近日発売
159-02625	Oxalic Acid Dihydrate	RoHS対応用	500g	近日発売
169-22565 165-22567	Petroleum Ether	RoHS対応用	500mℓ 18ℓ	1,100 照会
161-22525	Phenol	RoHS対応用	500g	1,750
167-22505 163-22507	Phosphoric Acid	RoHS対応用	500mℓ 25kg	近日発売 近日発売
168-22535 164-22537	Potassium Chloride	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
162-22555	Potassium Dihydrogenphosphate	RoHS対応用	500g	1,500
164-22515 160-22517	Potassium Hydroxide	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
165-22545	Potassium Iodide	RoHS対応用	500g	近日発売
164-22495 160-22497	2-Propanol	RoHS対応用	500mℓ 14kg	900 照会
166-22575 162-22577	Pyridine	RoHS対応用	500mℓ 17kg	2,800 照会
198-14365 194-14367	Sodium Carbonate	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
195-14375 191-14377	Sodium Chloride	RoHS対応用	500g 20kg	950 照会
199-14395 195-14397	Sodium Dihydrogenphosphate Dihydrate	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
191-14355 197-14357	Sodium Hydrogen Carbonate	RoHS対応用	500g 15kg	近日発売 近日発売
199-14415 195-14417	Sodium Hydroxide	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
196-14425	1mol/ℓ Sodium Hydroxide Solution	RoHS対応用	500mℓ	近日発売
193-14435	0.5mol/ℓ Sodium Hydroxide Solution	RoHS対応用	500mℓ	近日発売
192-14385 198-14387	Sodium Sulfite	RoHS対応用	500g 20kg	近日発売 近日発売
192-14405 198-14407	Sulfuric Acid	RoHS対応用	500mℓ 30kg	980 照会
205-16585 201-16587	Tetrahydrofuran, no Stabilizer	RoHS対応用	500mℓ 15kg	1,700 照会
205-16605 201-16607	Tetrahydrofuran, with Stabilizer	RoHS対応用	500mℓ 15kg	近日発売 近日発売
202-16595 208-16597	Toluene	RoHS対応用	500mℓ 15kg	860 照会
206-16635	*p*-Toluenesulfonic Acid Monohydrate	RoHS対応用	500g	近日発売
202-16615 208-16617	Triethylamine	RoHS対応用	500mℓ 14kg	1,950 照会
209-16625 205-16627	Trisodium Citrate Dihydrate	RoHS対応用	500g 10kg	近日発売 近日発売
245-00815 241-00817	Xylene	RoHS対応用	500mℓ 15kg	1,020 照会

試料前処理用

Wako

プレセップ® ポリアミド C-200 タイプ M (2g/25mℓ)

　プレセップ®ポリアミドはポリアミド樹脂を充てんしたシリンジ型カラムです。充てん量2gのポリアミドカラムは葛根湯エキスの成分であるペオニフロリンの定量試験における試料前処理などに使用されています。

コード No.	品　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
296-64901	Presep®Polyamide C-200 Type M(2g/25mℓ)	試料前処理用	10 個×5	37,500

カラム充てん剤

Wako

ワコーゲル® 50NH₂

　ご好評頂いておりますカラム充てん剤ワコーゲル®シリーズに、新たにアミノプロピル基を修飾したシリカゲル「ワコーゲル® 50NH$_2$」を追加しました。中圧、フラッシュ、オープンクロマトグラフィー及び固相抽出カラム用の充てん剤としてご使用いただけます。

規　格

粒度（38～63 μm）：70%以上
pH（100g/ℓ 水浸液， 25℃）：8.5～11.5
実用試験：試験適合

コード No.	品　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
239-02311	Wakogel®50NH$_2$	カラムクロマトグラフ用	100g	8,000
231-02315			500g	28,000

新発売!!ナノテクを用いた磁気ビーズの革命

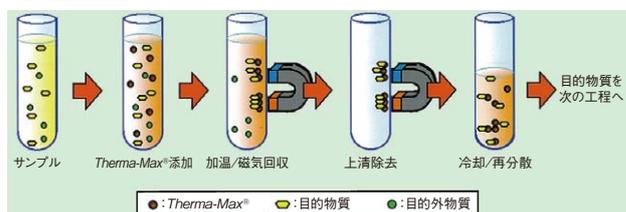
Therma-Max®

　Therma-Max®は熱応答性高分子を磁性ナノ粒子表面に固定化した画期的な新規磁気ビーズです。磁性ナノ粒子は粒子が小さいため、磁気分離がきわめて困難でしたが、Therma-Max®はわずかな温度変化で凝集し、容易に磁気分離することが可能です。また、従来のミクロンサイズの磁気ビーズに比べて、約100nmと非常に小さいため、結合容量、特異性、分散性に優れています。

Therma-Max®の凝集後の磁気回収及び分散

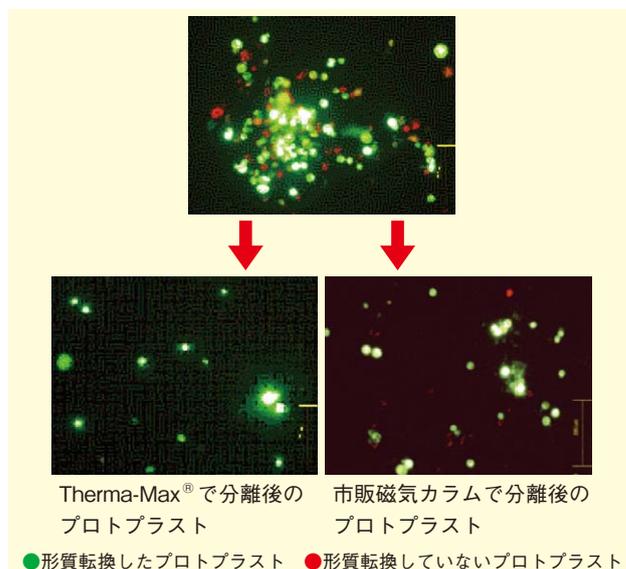
特　長

- 非常に高感度（ミクロンサイズ磁気ビーズの10倍）
- タンパク質精製などの処理時間が大幅に短縮（約30秒）
- 細胞分離に使用した場合、細胞への負荷が非常に小さい
- 磁気分離を行った後の再分散性が良好であり、洗浄操作が容易（磁気カラム不要）
- 磁気ビーズの表層を親水処理しているため、自然沈降しない

使用法

データ

■ Therma-Max®と市販磁気カラムを用いた、形質転換したプロトプラストの分離効率の比較

Therma-Max®で分離後のプロトプラスト　　市販磁気カラムで分離後のプロトプラスト

●形質転換したプロトプラスト　●形質転換していないプロトプラスト

コード No.	メーカーコード	品　名	容量	磁気回収温度	希望納入価格(円)
631-09791	TML001	Therma-Max® LA Avidin	1mℓ	42℃	39,800
638-10291	TML002	Therma-Max® LC Carboxylic acid	1mℓ	42℃	19,800
631-10301	TML003	Therma-Max® LA Avidin (30)	1mℓ	30℃	39,800
638-10311	TML004	Therma-Max® LAm Amine	1mℓ	42℃	19,800
635-10321	TML005	Therma-Max® LPA Protein A	1mℓ	42℃	19,800
632-10331	TML006	Therma-Max® LPG Protein G	1mℓ	42℃	19,800

関連商品

コード No.	メーカーコード	品　名	容量	希望納入価格(円)
638-09941	TMM001	Magna-Stand 6	1台	16,800

1.5mℓまたは2.0mℓチューブ6本用の磁気スタンド

New Products

ハイブリドーマ培養用培地（無タンパク・動物由来成分不含）

Thermo ELECTRON CORPORATION

Xten™ PF-1

細胞培養に一般的に使用されている基本培地に生物由来成分（血清やタンパク）を添加して培養した細胞から生産される抗体には不純物が多く、精製に労力を要します。また、動物血清を用いると抗体の生産量やその力価がロット間でバラツキが出てきます。

本品は、モノクローナル抗体の生産用に特別に調製した無タンパク、動物由来成分不含の液体培地で、マウス、ラットやヒト*1のハイブリドーマの培養が行えます。

＊1：脂質依存性細胞には脂質を加える必要が有ります。

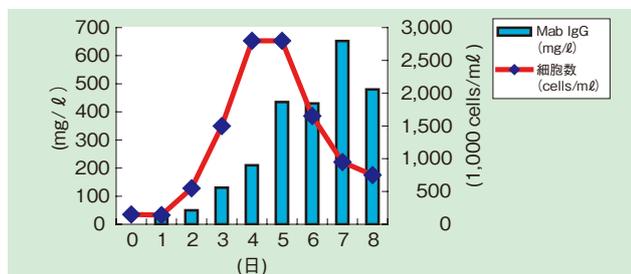
特　長

- 組成がすべて明らかで、タンパクや動物由来成分を含まない
- ロット間差がなく一定の性能が得られる
- 培養液からの精製プロセスが容易である
- L-グルタミン不含である

使用法

1. 本品：200mmol/ℓ L-Glutamine = 98：2 容量で混合する
2. T-フラスコに培養初期の細胞濃度が 3×10^5 ～ 5×10^5 個 /mℓ になるのに必要な量の本品溶液を加える
3. CO_2 濃度 5 ～ 10%、37℃で 3 時間以上インキュベートする
4. 冷凍庫から細胞を取り出し、37℃の水浴ですばやく溶解する
5. 溶解細胞溶液を T- フラスコに良く分散するように振り混ぜながら、ゆっくりと加える
6. CO_2 インキュベーターを用い、37℃で培養する

データ

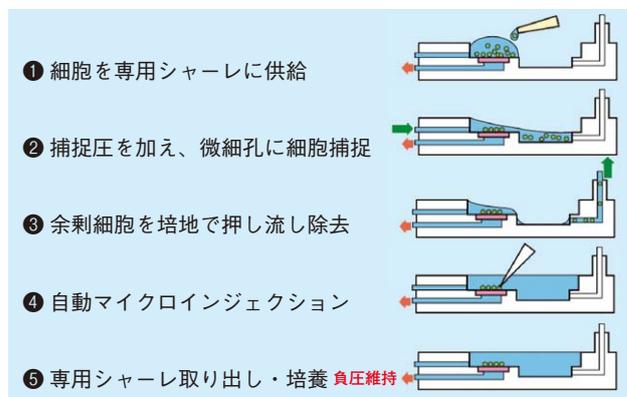
■ Xten™PF-1 による Sp2/0-9D5 細胞の培養結果と産出されるモノクローナル抗体量

■ 時間当たり抗体生産効率の比較

細胞種：Sp2/0-9D5 ATCC 番号 CRL2347
生成物：IgG-9D5：抗マウス SCAP 抗体
培　養：標準的プロトコルに従い、本品溶液 40mℓ に細胞初期濃度 2×10^5 細胞 /mℓ となるように Sp2/0-9D5 細胞を T-150 フラスコに加え、CO_2 濃度 5%、37℃で培養した。G 社、H 社製品についてはメーカー推奨方法に従って調製し、同条件下で培養を行った。

メーカーコード	品　名	容量	希望納入価格(円)
11-430-0100V	Xten™ PF-1	100 mℓ	照　会
11-430-0500V		500 mℓ	照　会
11-430-1000V		1000 mℓ	照　会

細胞へのマイクロインジェクションを身近にします

CELLINJECTOR™ CI-2000

これまで、血液・免疫系細胞のような浮遊細胞へのマイクロインジェクションは、2本のマイクロマニピュレータを用い、細胞をピペットで吸引する一方で、キャピラリを挿入するという、職人技を必要とする作業でした。セルインジェクター CI-2000 は、微細孔を持つシリコンチップを用いて細胞を自動的に吸引捕捉し、独自に開発したシャーレステージ、マイクロマニピュレータを用いて、高速マイクロインジェクションを実現しました。オペレーターは、導入物質を充てんしたキャピラリと専用シャーレを装置にセットし、浮遊細胞をシャーレ上に滴下するだけで、マイクロインジェクションを行うことができます。

特　長

- 浮遊細胞の吸引捕捉、キャピラリ先端の位置調整などの作業を自動化
- 浮遊細胞へのマイクロインジェクションで 1 細胞あたり最速 0.8 秒、30 分で約 1,000 細胞の処理が可能
- 35mm シャーレ上に培養した付着細胞の画像をコンピューター画面に表示させ、遺伝子などを導入したい細胞をマウスで選択するだけで、マイクロインジェクションをすることが可能

メーカーコード	品　名	容　量	希望納入価格(円)
PW09140-B030	CELLINJECTOR™ CI-2000	1台	30,000,000
PW09140-C070	蛍光オプションユニット	1式	6,000,000
PW09140-E005	捕捉専用シャーレ(浮遊細胞用)	1箱(5 個入)	45,000

ポリアクリルアミドゲル

Wako

スーパーセップTM

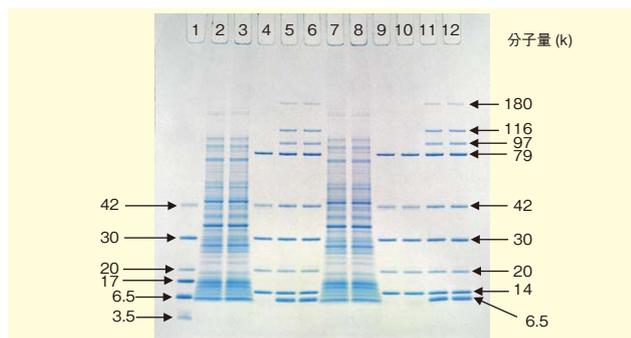
スーパーセップTMは、タンパク質や核酸の電気泳動用ポリアクリルアミドプレキャストゲルです。ゲル中にSDSが含まれておりませんので、SDSを含む緩衝液を用いるとSDS-PAGE、SDS不含の緩衝液を用いるとNative-PAGEに使用可能です。

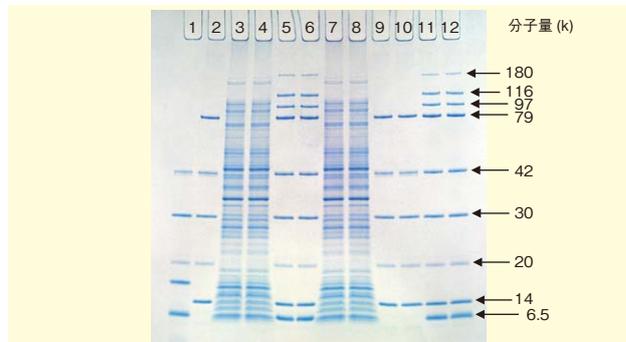
特　長

- 保存安定性が優れている（使用期限は品目により製造日から６～９ヶ月）
- 再現性が優れている
- ウェル容積が大きく、サンプルのアプライ量が多い
- ウエスタンブロッティングにおいて、タンパク質のPVDF膜への転写効率が優れている
- HGタイプのゲルは、新製法により高分離を実現

プレートサイズ：
100(H)×100(W)×3(T)(mm)
ウェル容積：
35 μℓ (12well), 25 μℓ (17well)
＊推奨アプライ量 10 μℓ

泳 動 例

SuperSepTMHG, 5-20%ゲルを用いたSDS-PAGE

ゲル：SuperSepTMHG, 5-20%, 12well ［コードNo. 195-13611］
サンプルバッファー：Sample Buffer Soln.（×2, 2-ME＋）
［コードNo. 196-11022］
泳動バッファー：Running Buffer Soln.（×10）［コードNo. 184-01291］
染色：Quick-CBB PLUS ［コードNo. 178-00551］
サンプル：Lane 1：Molecular Weight Marker, Low Range
［コードNo. 294-63101］
Lane 4, 9, 10：Molecular Weight Marker, Middle Range
［コードNo. 131-14511］
Lane 5, 6, 11, 12：Molecular Weight Marker, Wide Range
［コードNo. 296-63301］
Lane 2, 3, 7, 8 大腸菌由来タンパク質

SuperSepTMHG, 10-20%ゲルを用いたSDS-PAGE

ゲル：SuperSepTMHG, 10-20%, 12well ［コードNo. 199-13631］
サンプルバッファー：Sample Buffer Soln.（×2, 2-ME＋）
［コードNo. 196-11022］
泳動バッファー：Running Buffer Soln.（×10）［コードNo. 184-01291］
染色：Quick-CBB PLUS ［コードNo. 178-00551］
サンプル：Lane 1：Molecular Weight Marker, Low Range
［コードNo. 294-63101］
Lane 2, 9, 10：Molecular Weight Marker, Middle Range
［コードNo. 131-14511］
Lane 5, 6, 11, 12：Molecular Weight Marker, Wide Range
［コードNo. 296-63301］
Lane 3, 4, 7, 8 大腸菌由来タンパク質

コードNo.	品　名	分画分子量範囲（核酸のbp）	容量	希望納入価格(円)
192-12901	SuperSepTM 7.5%, 12well 濃縮ゲル：5%	40,000～200,000 (100～2,000)	10枚	12,000
199-12911	SuperSepTM 7.5%, 17well 濃縮ゲル：5%		10枚	12,000
196-12921	SuperSepTM 10%, 12well 濃縮ゲル：5%	20,000～130,000 (50～500)	10枚	12,000
193-12931	SuperSepTM 10%, 17well 濃縮ゲル：5%		10枚	12,000
190-12941	SuperSepTM 12.5%, 12well 濃縮ゲル：5%	14,000～80,000 (30～300)	10枚	12,000
197-12951	SuperSepTM 12.5%, 17well 濃縮ゲル：5%		10枚	12,000
194-13061	SuperSepTM 15%, 12well 濃縮ゲル：5%	6,000～60,000 (20～300)	10枚	18,000
191-13071	SuperSepTM 15%, 17well 濃縮ゲル：5%		10枚	18,000
194-12961	SuperSepTM 5-20%, 12well	10,000～200,000 (50～750)	10枚	12,000
191-12971	SuperSepTM 5-20%, 17well		10枚	12,000
198-12981	SuperSepTM 10-20%, 12well	10,000～130,000 (50～500)	10枚	12,000
195-12991	SuperSepTM 10-20%, 17well		10枚	12,000
190-13301	SuperSepTM 12.5%, 2D※	14,000～80,000 (30～300)	10枚	18,000
197-13291	SuperSepTM 5-20%, 2D※	10,000～200,000 (50～750)	10枚	18,000
195-13611	SuperSepTM HG, 5-20%, 12well	10,000～200,000 (50～750)	10枚	15,000
192-13621	SuperSepTM HG, 5-20%, 17well		10枚	15,000
199-13631	SuperSepTM HG, 10-20%, 12well	10,000～130,000 (50～500)	10枚	15,000
196-13641	SuperSepTM HG, 10-20%, 17well		10枚	15,000

※2Dとは、2次元電気泳動の2次元目(SDS-PAGE)に使用するゲルです。

各種標識用(HRP, ASPなど)に

Wako

ストレプトアビジン，組み換え体

ストレプトアビジンは4量体タンパク質であり、構成するサブユニットはそれぞれ1分子のビオチンと結合します。本品は大腸菌組換えタンパク質由来の凍結乾燥品になります。
ビオチン結合能：10～20units/mg

コードNo.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格(円)
190-14261	Streptavidin, recombinant	生化学用	10mg	50,000

耐熱性酵素シリーズ

Wako

キチナーゼ

本品は、超好熱性古細菌*Pyrococcus furiosus*から得られたキチナーゼです。βキチンのみならず、これまで酵素的分解の難しかったαキチンに対しても強力な分解活性を示します。

特　長

- *Pyrococcus furiosus* 由来
- 最適温度 85℃

分 解 例

左：本品未添加
右：本品添加後 85℃で３時間加温

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
034-19891	Chitinase, Thermostable, recombinant, Solution	生化学用	1mℓ	30,000

PCR 後のプライマー除去に最適！

Wako

スピンクリーナー，低分子用

本品はゲルろ過担体が充てんされた低分子DNA除去用スピンカラムです。PCRや制限酵素の反応後に使用し、フェノール－クロロホルム抽出、エタノール沈殿などの工程なしで、次工程の反応に進めます。Buffer交換、脱塩などのクリーンアップ、PCRプライマーの除去にご使用下さい。

特　長

- 試料は希釈されずに回収
- 微量遠心機で使用可能
- 操作時間は 10 分以内

Primer 除去性能の確認

①GAPDH 遺伝子をクローニングした pUC 系 Plasmid を鋳型として pUC/M13 Primer（22mer）による２サイクル PCR 増幅（Primer はほとんど残っている状態）

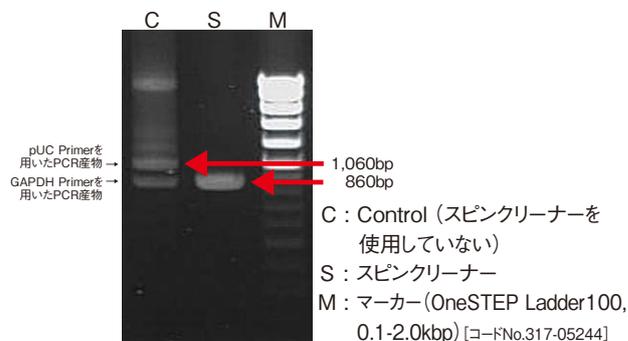
＊ここで得られる PCR 産物は GAPDH 遺伝子特異的 Primer を用いた PCR 産物より約 200bp サイズが大きい

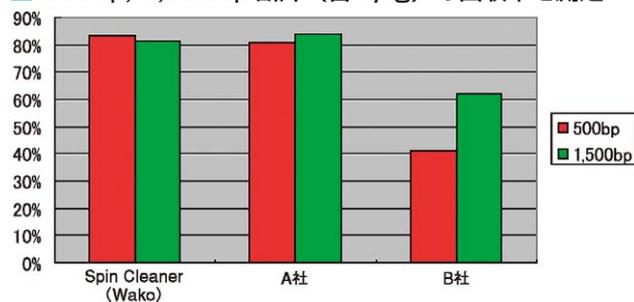
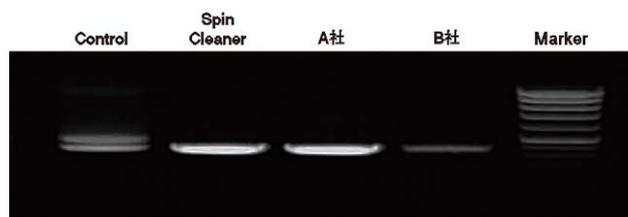
②スピンクリーナーによる Primer 除去（control はスピンクリーナーを通さない）

③GAPDH 特異的 Primer を添加し、25 サイクルの PCR 増幅

④電気泳動による確認

＊ pUC/M13 Primer が除去されている場合 860bp の１バンドになり除去されていなければ 1,060bp と 860bp の２バンドになる（下泳動写真）

C：Control（スピンクリーナーを使用していない）
S：スピンクリーナー
M：マーカー（OneSTEP Ladder100, 0.1-2.0kbp）［コードNo.317-05244］

比較データ

■500bp, 1,500bp 断片（各１μg）の回収率を測定

■回収サンプルの Nested PCR

〈Nested PCR〉
1st PCR（2サイクル：Primerのほとんど残った状態）
GAPDH-pGEM TEasy Vector
(pUC 系 Plasmid)
pUC/M 13 Primer

Nested PCR（35サイクル）
1st PCR product
GAPDH Primer
↓
1％ Agarose gel 電気泳動

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
195-14451	Spin Cleaner for Low Molecular Weight	遺伝子研究用	20 個	13,000

New Products

免疫沈降及び組織染色用　Wako

抗 GFP, モノクローナル抗体

本品は、野生型GFP及び*A. victoria*（オワンクラゲ）由来のGFP variantsに特異性を示すモノクローナル抗体で、免疫沈降や免疫組織化学染色に使用できます。

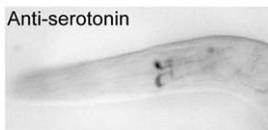
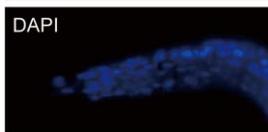
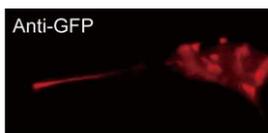
特　長

- 高い GFP 回収率
- 安価

免疫動物：マウス
クローン No.：mFX73
サブクラス：$IgG_{2a \cdot \kappa}$
使用量：免疫沈降…1～5 μg / 5 μℓ Sepharose
　　　　免疫組織化学染色…0.5～1 μg/mℓ
濃　度：約 1 mg/mℓ
交差性：野生型 GFP 及び *A.victoria*（オワンクラゲ）由来の GFP variants と特異的な交差性を示す。

※本品は、非変性のタンパク質とは反応しますが、熱、化学的に変性したタンパク質に対しては極めて反応性が低いため、ウエスタンブロッティングには使用できません。

使 用 例

抗セロトニン抗体との二重染色

線虫株：unc-18 (e 81)；unc-18::EGFPのL4幼虫
固　定：4%パラホルムアルデヒド/1%グルタルアルデヒドにより4℃でo/n固定
一次抗体：Anti-GFP抗体 (mFX 73) 1 μg/mℓ + Anti-Serotonin serum（1：500）
二次抗体：Cy3標識 Anti-mouse 抗体（1：200）+ビオチン標識 Anti-rabbit IgG（1：200）/ ABC complex（1：100）
検　出：DAB/蛍光

セロトニン陽性の少数ニューロンと、頭部のたくさんのニューロンの細胞体及び突起が染色されている。

（データ提供：東京女子医科大学　三谷昌平助教授）

〔参考文献〕

1）Prasher, D. C. *et al.* : *Gene*, **111**, 229 (1992).
2）Zhen, M. and Jin, Y. : *Nature*, **401**, 371 (1999).
3）Nakagawa, M. *et al.* : *J. Cell Sci.*, **114**, 1829 (2001).
4）Fukata, M. *et al.* : *Mol. Cell Biol.*, **21**, 2165 (2001).

コード No.	品　　名	規　格	容量	希望納入価格(円)
012-20461	Anti Green Fluorescent Protein, Monoclonal Antibody	遺伝子研究用	100 μℓ	30,000
018-20463			100 μℓ×5	120,000

マイクロアレイ標識用基質　Wako

アミノアリル-UTP
アミノアリル-dUTP
ビオチン-11-dUTP

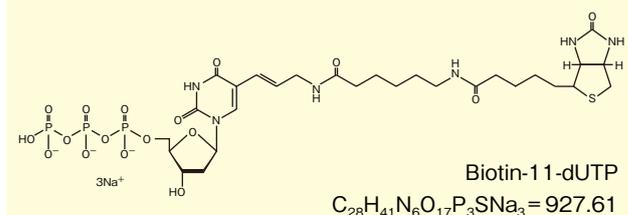
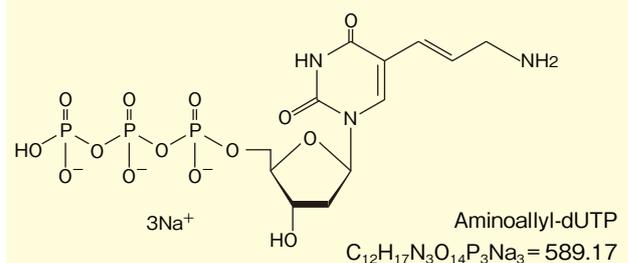
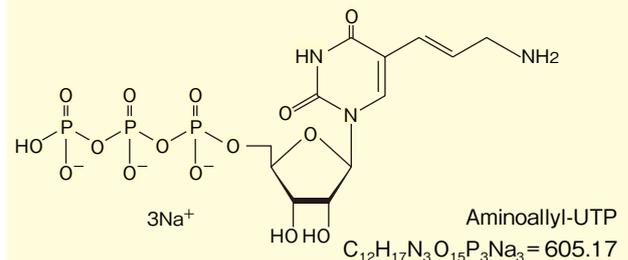
アミノアリルUTP, dUTPは蛍光色素の間接標識のために逆転写あるいはRNA増幅時に使用されます。蛍光物質の取り込みに優れたアミノアリル化修飾をしてあるため、任意の蛍光物質を標識後にマイクロアレイ解析する場合などにご使用いただけます。Biotin-11-dUTPはビオチン標識済みであり、PCR, cDNA合成反応時などのラベリング反応に使用いただけます。各種DNase, RNaseチェックを行っており貴重なサンプルの分解の心配がありません。

特　長

- DNase, RNase 活性チェック済み

Aminoallyl-UTP
$C_{12}H_{17}N_3O_{15}P_3Na_3$ = 605.17

Aminoallyl-dUTP
$C_{12}H_{17}N_3O_{14}P_3Na_3$ = 589.17

Biotin-11-dUTP
$C_{28}H_{41}N_6O_{17}P_3SNa_3$ = 927.61

コード No.	品　　名	規　格	容　量	希望納入価格(円)
014-20661	Aminoallyl-UTP Solution	分子生物学用	50 μℓ (2.5 μmol)	25,000
012-20721	Aminoallyl-dUTP Solution	分子生物学用	100 μℓ (2.5 μmol)	25,000
021-15581	Biotin-11-dUTP Solution	分子生物学用	50 μℓ (50nmol)	30,000

H_2O_2 特異的検出用 蛍光タンパク質センサー

EVROGEN

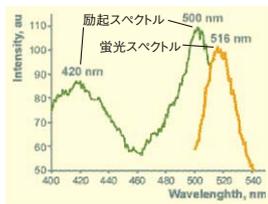
HyPer 発現ベクター

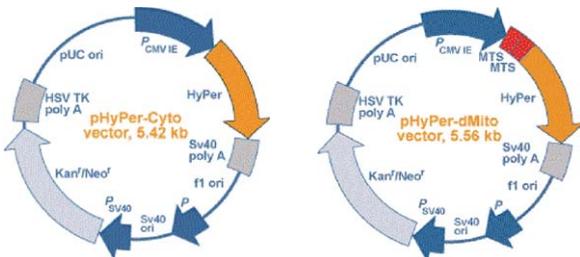
活性酸素種には、スーパーオキシド（$O_2^{-\cdot}$）、過酸化水素（H_2O_2）、ヒドロキシルラジカル（・OH）、一重項酸素（$^1O_2$）などがありますが、この他に脂質の酸化により生成する脂質ペルオキシルラジカル（LOO・）や脂質ヒドロペルオキシド（LOOH）なども広義の活性酸素種として知られています。

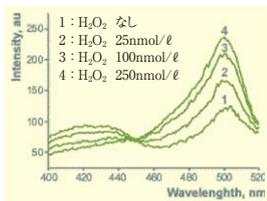
HyPerは、細胞内のH_2O_2を特異的かつ高感度に検出可能な蛍光タンパク質で、細胞内で直接遺伝子発現が可能です。

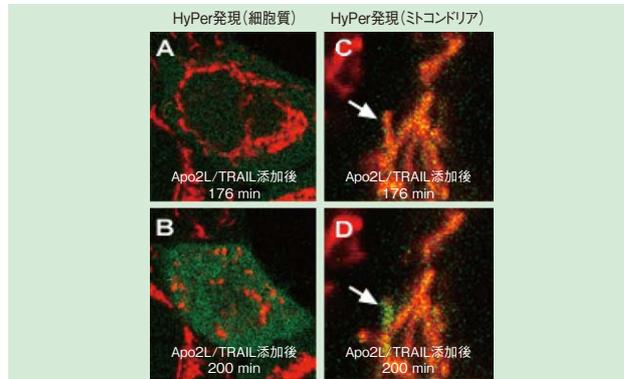
特　長

- 特異的かつ高感度にH_2O_2を検出可能
- 細胞内H_2O_2量に相関した蛍光強度の測定が可能
- 直接細胞内で発現可能
- 補因子としての細胞内化学物質が不要

タンパク質　：HyPer
分子量　：52,000
蛍光色　：緑
励起波長 λ Ex（nm）：420, 500
蛍光波長 λ Em（nm）：516

発現ベクター

■細胞質発現ベクター　■ミトコンドリア局在ベクター

デ ー タ

■H_2O_2によるHyPerの励起スペクトルの変化

HyPerを含む溶液に、各濃度のH_2O_2を添加することによって、励起スペクトルが変化する。
→H_2O_2センサーとして利用可能であることを示す。

■HyPer発現細胞におけるアポトーシス検出

HyPer発現HeLa細胞培養液へのApo2L/TRAIL添加後の経時変化モニタリング
A, B：HyPer-Cyto vector導入細胞
C, D：HyPer-dMito vector導入細胞
TMRM（Tetramethylrhodamine methyl ester）：ミトコンドリア特異的赤色蛍光ラベリング試薬（20nmol/ℓ）
Apo2L/TRAIL：アポトーシス誘導タンパク質（400ng/mℓ）

Apo2L/TRAIL添加後200分
B：176分後（A）と比較して、アポトーシスによりミトコンドリアの赤色蛍光シグナルが減少。それに対して、細胞質中でHyPerの緑色蛍光を検出。
D：ミトコンドリア中でHyPerの緑色蛍光シグナルを検出（Cでは未検出）。
→アポトーシスに伴うH_2O_2発生のモニタリングに最適。

〔参考文献〕

Belousov, V. V., Fradkov, A. F., Lukyanov, K. A., Staroverov, D. B., Shakhbazov, K. S., Terskikh, A. V. and Lukyanov, S. : *Nat. Methods*, **3**(4), 281(2006).

コードNo.	メーカーコード	品　名	容 量	希望納入価格(円)
556-88631	FP 941	pHyPer-Cyto vector（細胞質発現用）	20 μg	126,000
553-88641	FP 942	pHyPer-dMito vector（ミトコンドリア局在用）	20 μg	126,000
550-88651	FPS 01	HyPer vector set（FP 941・FP 942のベクターセット）	1 セット	168,000

ライセンスについて

Notice to Purchaser :
Evrogen Fluorescent Protein Products (the Products) are available to Purchasers for non-commercial non-for-profit research use. With purchase of the Products, Purchaser is granted a worldwide, non-exclusive, royalty-free, limited license to use the Products for non-commercial life science research only. Such license specifically excludes the right to sell or otherwise transfer the Products, its components or derivatives to third parties and any uses or activities (or the results therefrom) that themselves generate revenue for the Purchaser.
For commercial use of the Products please contact Evrogen at license@evrogen.com for license information.

Evrogen Fluorescent Proteins Licensing Program :
Evrogen offers fluorescent proteins (TurboGFP, Phi-Yellow, and JRed, patent applications pending) for commercial use under a license. Our Licensing Program is a cost-effective and flexible way for customers to obtain a variety of licensing options for internal use, providing services to third parties, manufacturing of novel products or other applications. Quick and convenient evaluation of Evrogen fluorescent protein-based technologies is easily available by purchase of fluorescent protein vectors of interest.
For license information please contact Evrogen at license@evrogen.com.

ヘルマン・ヴァルター・ネルンスト　(1864.6.25～1941.11.18)

科学史家　島尾　永康

生立ち・修業時代（1864～1887）

西プロイセンのブリーセン（現、ポーランドのワブレズノ）という小さな町で生まれた。父はプロイセンの判事で、特権的で裕福な家庭だった。ギムナジウム時代は、文学、詩、古典に大きな才能を発揮した。文学と演劇とくにシェイクスピアへの興味は生涯続いた。化学への興味もこのころからで、家の地下室に実験室をもっていた。大学時代は聴きたい講義を求めて、いくつかの大学を転々とした。第１学年はチューリッヒでウェーバーの物理学を、第２学年はベルリンでヘルムホルツの熱力学を聴き、第３学年は再びチューリッヒで過ごし、第４学年はボルツマンを慕ってグラーツに赴き、自然現象の原子論的解釈を学んだ。ボルツマン門下のエッティングスハウゼンがネルンストにとって師と友を兼ねた存在となり、両者は共同研究をおこなってエッティングスハウゼン・ネルンスト効果を発見した。熱の流れのある導体板に磁場を熱の流れと垂直に作用させると、もとの熱流と磁場とに垂直の方向に電位差を生じるという熱磁気効果である。これを発展させて博士学位はヴュルツブルクのコールラウシュの下で取った（1887）。コールラウシュのところでは、アレニウスとエミール・フィッシャーが研究仲間だった。そのアレニウスがネルンストをオストヴァルトに紹介した。

ライプツィッヒ時代（1887～1891）

オストヴァルトはライプツィッヒ大学の教授になると、ただちにネルンストを助手にした。ネルンストの生涯にとってこれは物理学から物理化学への重大な転換点となった。かれは物理化学の問題に専念し、１年足らずのうちに溶液への電解質の拡散の法則を導き出し（1888）、化学電池の起電力と電池の電解質の濃度とを関係づけるネルンストの式に到達した（1889）。これに到達するには、かれは次の２つのオリジナルなアイデアを結びつけた。第一、電池反応の電解質の濃度変化は浸透圧の変化に比例する。第二、電極の物質には固有の「溶解圧」がある。熱力学と電気化学的溶液理論とを結びつけた決定的に重要なこの研究によって、20代半ばで急速に国際的名声を得た。さらに、水とベンゼンとの間の安息香酸の分配を研究して、互いに混じり合わない二液にわたって一つの溶質が溶けるとき、溶質の量に関係なく一定の割合で分配されるという、ネルンストの分配則を出した（1891）。その実用例の一つは生体の異なる部分への物質の分配の分析である。たとえば、エーテルは、水性の媒質である血液よりも、脂肪質に富む脳や神経組織に集中しやすいことが明らかにされている。

図１．ネルンスト、40歳。署名。

ゲッティンゲン時代（1891～1905）

ゲッティンゲン大学の物理学の員外教授になった（1891）。同じ大学の外科学教授の娘エンマ・ローマイヤーと結婚し（1892）、２男３女をもうけた。就任後まもなく出版した『アヴォガドロ説と熱力学の見地からの理論化学』（1893）は、わずか４年前に出たばかりのオストヴァルトの『一般化学概説』（1889）とは明確な一線を画している。原子、分子の実在を疑問視してそれを使わなかったオストヴァルトに対して、ボルツマンに学んだネルンストは原子、分子を重視した。題名のアヴォガドロ説とは、無限の可能性を生み出す分子論の豊饒の象徴である。この本はエッティングスハウゼンに捧げられている。35年間に15版を重ねた。1894年、ネルンストはミュンヘン大学から、ボルツマンがウィーン大学へ移ったので後任の理論物理学教授に招かれた。駆け引き上手のネルンストはこの機会を利用してゲッティンゲン大学に物理化学教授職の創設と物理化学・電気化学研究室の新設とを物にした。そればかりか、もしゲッティンゲンに物理化学・電気化学研究室が実現しなかった場合は、ベルリン大学の物理学教授とするという念書さえ取っていた。当時、ベルリン大学とゲッティンゲン大学の人事はプロイセン文部省の管轄下にあり、優秀な人材を集めて両大学を有力な大学にするのが意図的な政策だったのである。つぎの11年間、ネルンスト研究室は世界中の研究者を引きつける一大研究センターに発展した（図２）。同時代のドイツの他の教授とは異なり、ネルンスト研究室には女性も多かった。ネルンストはライプツィッヒ時代に23篇の論文を発表したが、ゲッティンゲン時代の論文数は門下生の論文を含めて約360篇である。神経生理学で重要な、電気的神経刺激閾（いき）についてのネルンストの法則（1899）は、電流がイオンの移動と細胞膜近辺での濃度変化を生じ、それが可逆電極になるという観点にもとづいている。アンモニア合成の研究では、ハーバーの大気圧、1000℃で収量0.01％と比べて、ネルンストは50気圧、685℃で収量1％の好結果を得たが（1907）、熱定理の問題に取りつかれていたので、それ以上アンモニアの研究を追究しなかった。

大幸（おおさか）勇吉（1867～1950、京都帝大物理化学教授、1904～1927）は、1901年９月からネルンストの下に１ヵ年留学した。まず練習実験としてネルンストの考案した誘電定数測定法の実験をおこない、研究実験は員外教授ケーンの指導で

図２．ゲッティンゲン大学物理化学教室（1895年開設）。晩年の（83歳の）大幸の回想によれば、ネルンスト家は１階を公邸として住んでおり、２階と地下室が研究室で、１階の他の部分にも研究室があったかもしれないという。ネルンストが使用した（1896～1905）後、タンマン（1908～1930）、さらにオイケン（1929～1950）が引き継いだ。

図３．ネルンストと大幸勇吉（1902年３月）。

図４．ネルンスト電灯（Ｂタイプ）。

電解酸素発生の過電圧の測定をした。電解水素の研究は多いが、酸素はこれが初めてという。次はネルンストの指導で、希薄水溶液と純水を半リットルずつ銀器に容れ、その氷点の0.01℃という微小な差をサーモカップルと電流計で測定した。それぞれ物理化学誌と無機化学誌で発表した（図３）。

ネルンスト電灯

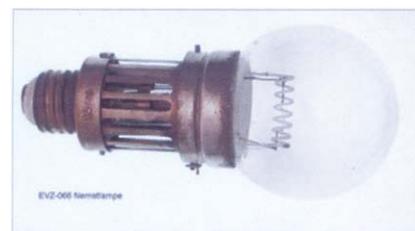
ネルンストは実用的な問題にも発明の才があった。エディソン発明のカーボン電球の最高温度が低く、効率が良くないことを見て、ジルコニウムとイットリウムとエルビウムのそれぞれの酸化物を90：７：３の重量比で混合して作った、長さ約１インチ、幅32分の１インチの棒状のセラミックスを発光体として2000℃まで加熱するネルンスト電灯を発明した（1897）。この発光体は室温では電気を導かないので、マッチの焔を当てて予熱し導体にする必要があった。１分で発光体に電流が通じ始め、数秒後に強い白熱光を出す。単位電力当たりの明るさはエディソン電球をはるかに上回った。のちの改良型では白金線コイルで予熱し、予熱が終わるとコイルは自動的に遮断される構造になった。酸化物であるから真空中で点灯する必要はないが、球をつけて使用された（図４）。カーボン電球に比べて費用がかかり、構造が複雑であるという難点があったが、効率は断然すぐれていた。ネルンストは次々に新しい電球が出現することを予想したのか、抜け目なく特許使用料とせず、現金一時払いの100万マルクという巨額で特許権をA. E. G.社（アルゲマイネ・エレクリツィテート・ゲゼルシャフト）に売った。1898年のライプツィッヒ大学物理化学研究室の新築費が35万マルクだったことを考えれば、100万マルクがいかに大金だったかが分かる。同社の社長ラーテナウはネルンストの科学者としての偉大さばかりでなく、その商才をも高く買っていた。ネルンスト電灯は数年後に出現したタングステン・フィラメント電球と電球用の真空ガラス容器の安価な製造に圧倒された。しかしA. E. G.社は1909年の生産停止まで800万個を生産した。欧米諸国でかなり普及し、日本でも製品化され、短期間ではあるが販売された。大幸はある教室員集会で、ネルンスト電灯の最初から最近までの発達過程の各種が天井から吊るされて輝いているのを見た。ネルンストはアメリカ人留学生、ラングミュア（Ph.D. ゲッティンゲン、1906）、に白熱金属線への気体の影響を研究させた。のちにラングミュアは窒素ガス入り電球を発明することになる（1913）。

ネルンストは特許権で得た金のうち4万マルクで研究室を増築し、別荘を買い、当時のヨーロッパではまだ珍しかった自動車を購入した。ゲッティンゲンでの第一号だった。次々に17台買った。大幸が留学した頃ネルンストは3台所有しており、そのうち1台は蓄電池自動車だった。鉛蓄電池についての講義のときには、教室の前庭に引き出して説明した。ネルンストが大幸を誘い、自ら運転して、郊外の気球の見物に連れて行ってくれたこともある。ベルリンのファント・ホフとライプツィッヒのオストヴァルトがネルンストを訪問したとき、ネルンストは自ら運転して駅に出迎えた。物理化学の世界的3大家が同乗して駅を出たとき、冗談好きなファント・ホフは、これで事故が起これば物理化学は全滅だといった。ネルンスト夫妻は接待好きで、賑やかな派手なことが好きだった。

図５．1905年、ベルリン大学に赴任するとき、一家を挙げてオペル車に乗ってベルリンまでドライブした（背景はゲッティンゲン大学物理化学教室）。

郊外の田舎のレストランへ教室員全員を招待したときは、往復とも軽便鉄道の機関車の前面にはN列車と大書した板が下げられた。1904年、40歳で早くも古参の優れた科学者に与えられる国家的栄誉称号である枢密顧問官を受けた（図１）。ゲッティンゲン時代はネルンストの生涯で最も幸福で実り多い時代だった。

ベルリン時代（1905～1933）

1905年、ネルンストはベルリン大学（現、フンボルト大学）の物理化学教授（～1922）となり、翌年、ブンゼン通りの第二化学教室を引き継いで物理化学教室と改称した。プランクがネルンストを強く推したのである。ネルンストは自ら運転して家族と一緒に車でベルリンへ赴任した（図５）。

熱定理

ネルンストの最大の業績であるこの基本的問題の思索と研究はゲッティンゲン時代におこなわれたので、すでにベルリン大学に赴任していたネルンストは、1905年12月23日、わざわざゲッティンゲン科学アカデミーに戻って発表した。それが「熱的測定による化学平衡の計算について」（1906）と題する40頁の熱定理、のちに熱力学の第三法則へと発展する古典的論文である。化学工業の発達につれて化学反応の親和力の測定が重要となった。トムセンとベルトロはそれぞれ別個に熱化学の測定をおこなって、同じく反応熱を親和力の尺度と考えた。ベルトレはその原理は固体間の反応ではほぼ正しく、低温ではより正確であると限定した。ヘルムホルツは反応熱のうち、仕事に転換できるエネルギーとしての自由エネルギーの概念を導入した。これを用いればベルトロの原理では、全エネルギー（反応熱）と自由エネルギーは等しい。しかし吸熱反応のような例外があった。ネルンストは、この原理は常温では近似的であるが、絶対零度あたりでは真であるという考えに到達し、自由エネルギーと全エネルギーとの差は、温度の低下とともに減少し、絶対零度では等しくなるという仮説を発表した。わずかな事実にもとづいての大胆な飛躍であった。その後1914年の戦争勃発までの８年間、ベルリン大学物理化学教室の総力をあげて、その実験的検証に当たり、低温物性の研究で大きな成果を挙げた。もっぱら実験的証拠を追求していたところ、ネルンストとは別個にアインシュタインが量子論を用いて出した比熱の理論によって、熱定理は理論的にも裏付けられた。1910年、プランクはエントロピーを用いて熱定理を再定式化し、すべての純物質のエントロピーは絶対零度では０になるとした。これによって熱力学第三法則として確立された。しかしネルンスト自身はエントロピーという用語を嫌い、エントロピーを使わない表現に固執して自己の先取権を強く主張し、第三法則の発見を早くから自負していた。1912年、ネルンストはあらゆる温度のうち絶対零度には特別の熱力学的意義があるとして、絶対零度到達不能の原理を発表した。

光化学

現代の光化学はアインシュタインの光化学当量の法則（1912）を出発点とする。それによれば、最初の光化学反応で分子が１個の光量子を吸収すると、二次反応では光の供給を必要としない。この法則は多くの反応では成立した。しかしH_2とCl_2からHClが生成される反応では、１量子につき百万個という膨大な数のHCl分子を生じる。これをどう解釈するかが問題となった。ネルンストはこれを、次々に新しいCl原子とH原子を交互に生じる「連鎖反応」という単純で巧妙なアイデアによって説明した（1918）。

1911～13年に留学したイギリス人パーティントンによると、ネルンストは小柄で肉付きの良い人物で、鼻めがねをかけ、モーニングで正装して銀行家か重役実業家のような格好で、毎日、実験室に現れて全員に言葉をかけ、研究に進展があるかと聞いたという。ネルンストは熟達した実験家で、装置設計にも長じ、マイクロバランス、真空熱量計、小型水素液化装置などを作った。ネルンストは、大きな、複雑な、高価な装置を嫌った。大きい装置を組み立ててしまったパーティントンは、2，3日話し掛けてもらえなかった。講義はジョークや研究者の回想談を交えた、全く個性的なものだった。話が最近の科学研究、とくに自らの研究や解釈に及ぶと詳細をきわめたので、学生たちには物理化学のほとんどはネルンスト研究室で生み出されたように思われた。ネルンストの試験は平易だった。「知識は研究の死である」というのがモットーだったからである。

企業家的才能においてもネルンストは科学界で抜群だった。工業家ソルヴェーを説得し、22人の著名科学者を招集してソルヴェー会議を発足させたのはネルンストである（1911）。

ヴィルヘルム皇帝とはきわめて親密な間柄だったから、カイゼル・ヴィルヘルム研究所の設立もネルンストが主導した

（1911）。光量子説を出してはいたが、まだ無名の34歳のアインシュタインを特別教授としてベルリンへ招くのにも大いに尽力した（1913）。

1914年に戦争が勃発すると、ネルンストも軍国熱に浮かされて従軍すると言い出して研究室を混乱させた。自身の小さな車を運転して、ベルギーのマルヌまで軍隊と一緒に行動したが、いち早く敗戦を予見した。息子は二人とも戦死。著書、『新しい熱定理の基礎』（1917）の序文の冒頭で、「ギリシャやローマの先人は哲学に慰めを求めたが、今日、悲しみに満ちた現実から逃避するには理論物理学ほど相応しいものはない、」と述べた。

大戦後からヒトラー台頭まで（1919～1933）

大戦の前後はドイツ人のノーベル賞受賞が最も多い時期だった。ラウエ（1914）、ヴィーン（1914）、ヴィルシュテッター（1915）、ハーバー（1918）、シュタルク（1918）、プランク（1919）、ネルンスト（1920）、アインシュタイン（1922）。敗戦後は革命、インフレ、政治情勢の不安があったにもかかわらず、やがて戦前に劣らぬ科学の盛況をつくりだした。傑出した物理化学者がベルリンに集中し、世界でも類がなかった。大戦後から1933年までが物理化学の最盛期である。研究機関はいずれも国立で、予算は過剰でなく適切で、ベルリン大学、シャルロッテンブルク工科大学、カイザー・ヴィルヘルム研究所、国立物理工学研究所が互いに近い距離にあり、それらの首長はいずれもきわめて優れた科学者だった。ネルンストはベルリン大学学長（1921～22）を務めたあと、国立物理工学研究所の所長（1922～1924）となったが、かれの行政はうまくいかず、2年でさっさと辞任してベルリン大学物理学教授兼ディレクター（1924～1933）になった（図6）。熱定理を研究中の1912年から宇宙にも関心をもっていたが、学長就任講演として、『最近の研究を考慮に入れた宇宙構造』（1921）をおこない、

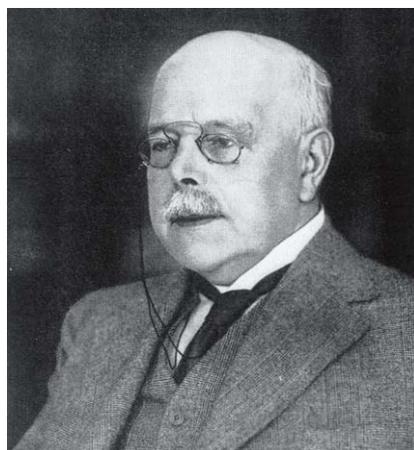



図6．ネルンスト、60歳。

20年代後半には天体化学物理学、星の温度と圧力における気体の比熱、星の進化などの論文を発表した。熱力学第二法則によって予言される宇宙の熱死という想念には同調できず、宇宙は定常的状態にあるとした。宇宙は絶えず変動しているが、エネルギー低下は、新星の出現などのエネルギー創造によって相殺される。新たなエネルギー源としては、まだエーテルの存在を認めていたネルンストは、「光エーテルのゼロ・ポイント・エネルギー」を要請した。ベルリン時代の論文数は門下生のものを含めて約340篇である。

この時期に駐米大使就任への要請もあった。情勢分析に長じ、産業界との関係も密接だったからであろうが、その話には乗らなかった。ネルンストの第二の発明であるネオ・ベヒシュタイン・ピアノ（1922）は、小型の装置で発生させた音を電子増幅して、グランド・ピアノの効果を出せるという楽器である。しかし音楽のセンスのなかったネルンストのこの楽器は不評であり、商業的にも成功しなかった。本人はこのような科学外活動を「楽しい物理学」（physique amusante）と呼んでいた。

隠棲（1933～1941）

ドイツ科学の盛衰とベルリンの興亡とネルンストの一生は重なる。ヒトラーの台頭とネルンストの引退は期を一にした。ヒトラーの政治を嫌い、ナチスの勢力が学界に及ぶことをとくに嫌った。科学学士院でナチス党党歌演奏のとき起立しなかった。長女ヒルデはユダヤ人化学者ハインツ・カーンに嫁いでいた。69歳で退官した後は、シレジアのツィベレ（現、ポーランドのラウジッツ）の、多数の広大な湖と池がある約122万坪の私有地で余生を送った。化学者として最大の業績は化学熱力学である。物理化学の問題の完璧な理論的把握ではかれに及ぶものはなかった。自動車であれ量子論であれ新奇な物やアイデアには素早く飛びついた。物理化学の後継教授マックス・ボーデンシュタインによれば、ネルンストは狩人のように、真なるものへの異常に鋭敏な鼻をもち、加えて、難しい事柄をかれ自身にも、われわれにも目に見えるように表現する空想力に恵まれていた。この具象性がかれの仕事の重要な特徴であるという。ドイツの伝統的な大学教授・枢密顧問官のイメージとはほど遠く、型破りの人物だった。賭け事好き（ベルリンのカジノの常連）、芝居好き、派手な社交家だった。シェイクスピア好みは、単位の命名に関する会議で、流率の単位としてフォルスタッフ（シェイクスピアの作品に登場する肥満の喜劇的老騎士）を提案したことにも現れている。

〔参考文献〕

Bodenstein, M. : “Walther Nernst,” *Ber. Deut. Chem. Gesel.*, 79～104（1942）. ; Partington, J. R., “The Nernst Memorial Lecture,” *J. Chem. Soc.*, 2853～2872（1953）. ; Hiebert, E. N., “Hermann Walther Nernst,” *Dic. Sc. Biogr.*, Vol. XV, 432～453.；大幸勇吉：「化学者としての予の思出」、『化学の領域』、第3巻、12号、549～555（1949）.；メンデルスゾーン、藤井かよ他訳：『ネルンストの世界』（岩波書店）（1976）.；ネルンスト著、松浦良平訳：「熱測定からの化学平衡の計算について」『化学の原典：化学熱力学』156～201，（日本化学会編）（1984）；山本義隆：『熱学思想の史的展開』（現代数学社）（1987）.；日本電球工業会編集発行：『日本電球工業史』（1963）.；http//www.nernst.de/

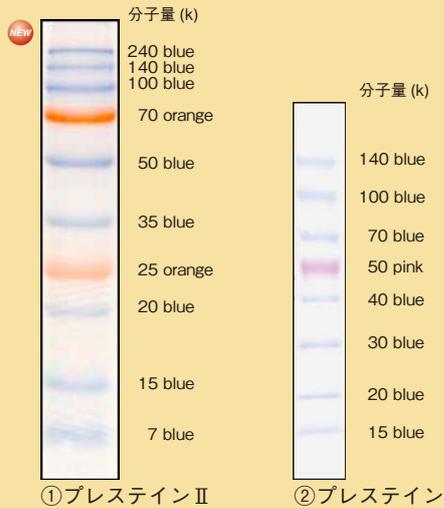
電気泳動用タンパク質サイズマーカー

Wako

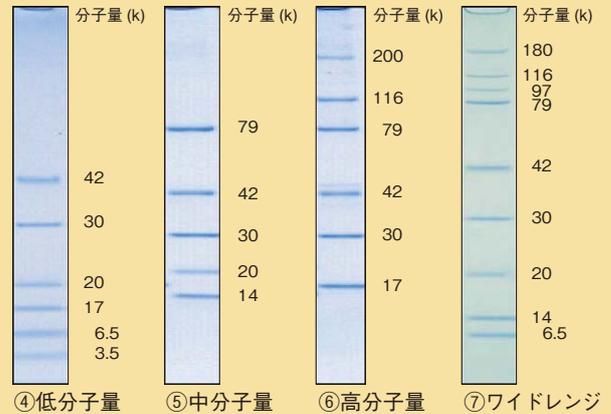
プレステインマーカー（①～②）

本品は、あらかじめ色素と結合させたマーカーです。泳動中の進行状況の確認や、転写時の状態の確認に適しています。

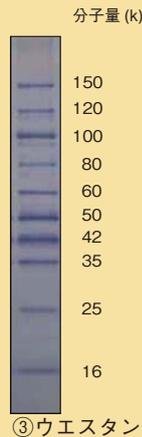
低分子領域から高分子領域までカバーしたプレステインマーカーⅡを発売しました。

①プレステインⅡ　②プレステイン

未着色マーカー（④～⑦）

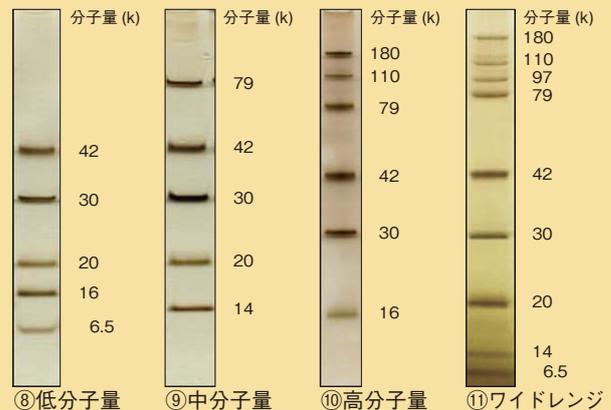
本品は、還元アルキル化処理を施したマーカーです。シャープなタンパク質バンドが得られます。

④低分子量　⑤中分子量　⑥高分子量　⑦ワイドレンジ

ウエスタン用マーカー（③）

本品は、免疫グロブリンと結合能を持つリコンビナントタンパク質（プロテインG）が含まれるマーカーです。ウエスタンブロット用のマーカーとしてご利用いただけます。

③ウエスタン

銀染色用マーカー（⑧～⑪）

本品は、銀染色用に最適化されたマーカーです。含まれるマーカータンパク質は還元アルキル化されているため、シャープなタンパク質バンドが得られます。

⑧低分子量　⑨中分子量　⑩高分子量　⑪ワイドレンジ

	コード No.	品　名	規　格	容　量	希望納入価格（円）
NEW ①	239-02291	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker Ⅱ	電気泳動用	500 μℓ（約 100 回用）	20,000
②	230-02221	WIDE-VIEW™ Prestained Protein Size Marker	電気泳動用	500 μℓ（約 100 回用）	18,000
③	233-02211	WIDE-VIEW™ Western Size Marker	電気泳動用	250 μℓ（約 50 - 250 回用）	20,000
④	294-63101	Molecular Weight Marker, Low Range	電気泳動用	1 mℓ 用（約 200 回用）	9,800
⑤	131-14511	Molecular Weight Marker, Middle Range	電気泳動用	1 mℓ 用（約 200 回用）	9,800
⑥	134-14501	Molecular Weight Marker, High Range	電気泳動用	1 mℓ 用（約 200 回用）	9,800
⑦	296-63301	Molecular Weight Marker, Wide Range	電気泳動用	1 mℓ 用（約 200 回用）	9,800
⑧	196-14001	Silver Stain MW Marker, Low Range	電気泳動用	6 mℓ 用（約 600 回用）	12,000
⑨	193-14011	Silver Stain MW Marker, Middle Range	電気泳動用	6 mℓ 用（約 600 回用）	12,000
⑩	190-14021	Silver Stain MW Marker, High Range	電気泳動用	6 mℓ 用（約 600 回用）	12,000
⑪	197-14031	Silver Stain MW Marker, Wide Range	電気泳動用	6 mℓ 用（約 600 回用）	12,000

収載されている試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるものであり、家庭用、医療用など他の用途には用いられません。

記載希望納入価格は本体価格であり消費税などが含まれておりません。

和光純薬時報 Vol. 74 No. 4
2006 年 10 月 15 日 発行
発行責任者　松田知憲
編集責任者　鰐部梢子
発　行　所　和光純薬工業株式会社
〒 540-8605　大阪市中央区道修町三丁目 1 番 2 号
TEL.06-6203-3741（代表）
URL http://www.wako-chem.co.jp
印　刷　所　共進社印刷株式会社

●和光純薬時報に対するご意見・ご感想はこちらまでお寄せ下さい。
E-mail　jiho@wako-chem.co.jp

●製品に対するお問合せはこちらまでお寄せ下さい。
フリーダイヤル　0120 − 052 − 099
フリーファックス　0120 − 052 − 806
E-mail　labchem-tec@wako-chem.co.jp